ผลของการให้แสงไฟและการเติมอากาศต่อการเจริญเติบโต และความสมบูรณ์เซลล์ของแพลงก์ตอนพืช

นายสุภวัช จิตรักษ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเกษตรศาสตรมหาบัณฑิต
แขนงวิชาการจัดการการเกษตร สาขาวิชาเกษตรศาสตร์และสหกรณ์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช
พ.ศ. 2558

Effect of Illumination and Aeration on Growth and Cell Content of Phytoplankton

Mr. Supawat Chitruk

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for
the Degree of Master of Agriculture in Agricultural Resources Management
School of Agriculture and Cooperatives
Sukhothai Thammathirat Open University
2015

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของการให้แสงไฟและการเติมอากาศต่อการเจริญเติบโต และความสมบูรณ์เซลล์ของแพลงก์ตอนพืช

ชื่อและนามสกุล นายสุภวัช จิตรักษ์

แขนงวิชา การจัดการการเกษตร

สาขาวิชา เกษตรศาสตร์และสหกรณ์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช

อาจารย์ที่ปรึกษา 1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตติมา กันตนามัลลกุล

2. รองศาสตราจารย์ ดร. มณฑิชา พุทชาคำ

วิทยานิพนธ์นี้ ได้รับความเห็นชอบให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรระดับปริญญาโท เมื่อวันที่ 16 ธันวาคม 2558

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(อาจารย์ ดร. อิสริยา วุฒิสินธุ์)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตติมา กันตนามัลลกุล)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. มณฑิชา พุทชาคำ)

.....ประธานกรรมการบัณฑิตศึกษา

(ศาสตราจารย์ ดร. สิริวรรณ ศรีพหล)

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของการให้แสงไฟและการเติมอากาศต่อการเจริญเติบโต
และความสมบูรณ์เซลล์ของแพลงก์ตอนพืช
ผู้วิจัย นายสุภวัช จิตรักษ์ **รหัสนักศึกษา** 2539000089
ปริญญา เกษตรศาสตรมหาบัณฑิต (การจัดการทรัพยากรเกษตร)
อาจารย์ที่ปรึกษา (1) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตติมา กันตนามัลลกุล
(2) รองศาสตราจารย์ ดร. มณฑิชา พุทซาคำ **ปีการศึกษา** 2558

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา 1) การเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช 2) ความสมบูรณ์เซลล์ของแพลงก์ตอนพืช และ 3) ต้นทุนค่าไฟฟ้าในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชที่ให้แสงไฟและเติมอากาศในรูปแบบต่างๆ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มี 4 ทรีตเมนต์ๆ ละ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้แพลงก์ตอนพืชชนิดคีโตเซอรอสจำนวน 1.2×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ระยะเวลาทดลองนาน 84 ชั่วโมง ทรีตเมนต์ที่ 1 เปิดแสงไฟและเติมอากาศต่อเนื่อง 24 ชั่วโมงต่อวัน (ชุดควบคุม) ทรีตเมนต์ที่ 2, 3 และ 4 เปิดแสงไฟและเติมอากาศจนครบ 12, 8 และ 6 ชั่วโมงต่อวัน ตามลำดับ ข้อมูลที่เก็บ ได้แก่ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นของเซลล์ ความสมบูรณ์เซลล์ และต้นทุนค่าไฟฟ้า นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan' s new multiple range test

ผลการวิจัยพบว่า 1) ทรีตเมนต์ที่ 1, 2, 3 และ 4 มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดในชั่วโมงที่ 6, 12, 6 และ 6 ตามลำดับ ในชั่วโมงที่ 66 ทรีตเมนต์ที่ 2 มีปริมาณความหนาแน่นของเซลล์มากกว่าทรีตเมนต์อื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ $3.49 \times 10^6 \pm 2.40 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร 2) ทุกทรีตเมนต์มีความสมบูรณ์เซลล์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) และ 3) ต้นทุนค่าไฟฟ้าของทรีตเมนต์ที่ 2, 3 และ 4 ต่ำกว่า ทรีตเมนต์ที่ 1 เท่ากับ 16.29%, 21.72% และ 24.43% ตามลำดับ

คำสำคัญ แพลงก์ตอนพืช อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นของเซลล์
ความสมบูรณ์เซลล์ ต้นทุนค่าไฟฟ้า

Thesis title: Effect of Illumination and Aeration on Growth and Cell Content of Phytoplankton
Researcher: Mr. Supawat Chitruk; **ID:** 2539000089;
Degree: Master of Agriculture (Agricultural Resources Management);
Thesis advisors: (1) Dr. Chittima Kantanamalakul; Assistant Professor;
(2) Dr. Monticha Putsakum, Associate Professor; **Academic year:** 2015

Abstract

This research aimed to study: 1) growth of phytoplankton; 2) cell content of phytoplankton; and 3) electricity cost in the culture of phytoplankton provided with illumination and aeration at various forms.

The experimental design was a completely randomized design (CRD) with 4 treatments and 3 replications. For each replication, phytoplankton *(Chaetoceros* sp.*)* 1.2×10^5 cells/milliliter were used. Experimental period was 84 hours. Treatment 1 (control group) was illumination and aeration continuously for 24 hours/day. Treatments 2, 3 and 4 were illumination and aeration alternately included for 12, 8 and 6 hours/day, respectively. The collected data were specific growth rate, cell density, cell content and electricity cost. The data were analyzed by using ANOVA. The difference among means were compared with Duncan's new multiple range test.

The results showed that 1) treatments 1, 2, 3 and 4 had highest specific growth rate at 6, 12, 6 and 6 hours, respectively. Treatment 2 had higher significant cell density than other treatments ($p<0.05$) at 66 hours with $3.49 \times 10^6 \pm 2.40 \times 10^4$ cells/milliliter. 2) There was no significant difference in cell content among 4 treatments ($p>0.05$). and 3) Treatments 2, 3 and 4 reduced electricity costs in the culture of phytoplankton when compared to treatment 1 about 16.29%, 21.72% and 24.43%, respectively.

Keywords: Phytoplankton, Specific growth rate, Cell density, Cell content, Electricity cost

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ผู้วิจัยได้รับความอนุเคราะห์อย่างดียิ่งจาก อาจารย์ ดร. อิสริยา วุฒิสินธุ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตติมา กันตนามัลลกุล และรองศาสตราจารย์ ดร. มณฑิชา พุทซาคำ ที่กรุณาให้คำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ ตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการร้านแพลงก์ตอนแลปสำหรับอุปกรณ์ในการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ผู้เขียนตำรา นักวิชาการทุกท่านที่ศึกษาค้นคว้าทดลอง และรวบรวมข้อมูลองค์ความรู้ต่างๆ ที่ผู้วิจัยได้นำมาใช้ประกอบในการศึกษาวิจัย

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ พี่น้องและเพื่อนๆ ได้แก่ ภญ.ธนิตา เพ็งศรี คุณรตพล วัฒนศิริเสรีกุล และ คุณขวัญตา พูลสำราญ ที่คอยช่วยเหลือ สนับสนุนให้กำลังใจ ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และข้อมูลต่างๆ ในการวิจัยครั้งนี้ จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ความดีหรือประโยชน์ที่ได้จากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

สุภวัช จิตรักษ์
ธันวาคม 2558

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญภาพ ..... ญ

บทที่ 1 บทนำ 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

วัตถุประสงค์การวิจัย 2

กรอบแนวคิดการวิจัย 2

สมมติฐานการวิจัย 2

นิยามศัพท์เฉพาะ 3

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 4

ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับแพลงก์ตอนพืช 4

ชีววิทยาของคีโตเซอรอส(Chaetoceros sp.) 6

การเพาะเลี้ยงคีโตเซอรอส 8

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 18

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 20

รูปแบบการวิจัย 20

เครื่องมือและอุปกรณ์ในการวิจัย 22

วิธีการวิจัย 23

สถานที่ที่ใช้ในการทดลองและเก็บข้อมูล 27

การวิเคราะห์ข้อมูล 27

ระยะเวลาในการทดลอง 27

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 28
ตอนที่ 1 การเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช 28
ตอนที่ 2 ความสมบูรณ์เซลล์ของแพลงก์ตอนพืช 36
ตอนที่ 3 ต้นทุนค่าไฟฟ้าในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช 38
บทที่ 5 สรุปการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 39
สรุปการวิจัยและอภิปรายผล 39
ข้อเสนอแนะ 41
บรรณานุกรม 42
ภาคผนวก 45
ก การตรวจสอบคุณภาพแพลงก์ตอน 46
ข การตรวจสอบคุณภาพน้ำ 57
ประวัติผู้วิจัย 62

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 3.1 แสดงเวลาในการเปิด-ปิดแสงไฟและการเติมอากาศในรอบวัน 21

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ย (เซลล์/มิลลิลิตร) ตลอดระยะเวลาการทดลอง 30

ตารางที่ 4.2 ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแพลงก์ตอนพืชเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาของการทดลอง 33

ตารางที่ 4.3 ระยะเวลาในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่าของแพลงก์ตอนพืชเฉลี่ยในแต่ละชั่วโมง 35

ตารางที่ 4.4 แสดงเปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์เซลล์เฉลี่ยในแต่ละทรีตเมนต์ 36

ตารางที่ 4.5 แสดงคุณภาพน้ำเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลอง 37

ตารางที่ 4.6 แสดงต้นทุนค่าไฟฟ้าสำหรับกำลังการผลิตแพลงก์ตอนพืช/100 ลิตร/ วัน 38

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1.1 กรอบแนวคิดการวิจัย 2
ภาพที่ 2.1 *Chaetoceros* sp. 6
ภาพที่ 2.2 การเจริญของแพลงก์ตอนพืชขนาดเล็ก 9
ภาพที่ 2.3 สไลด์ Hemacytometer 11
ภาพที่ 2.4 แสดงพื้นที่การนับปริมาณเซลล์ของสาหร่าย 12
ภาพที่ 3.1 แสดงการทดลองในทรีตเมนต์ที่ 1 23
ภาพที่ 3.2 แสดงการทดลองในทรีตเมนต์ที่ 2 24
ภาพที่ 3.3 แสดงการทดลองในทรีตเมนต์ที่ 3 24
ภาพที่ 3.4 แสดงการทดลองในทรีตเมนต์ที่ 4 24
ภาพที่ 4.1 แสดงปริมาณความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ยตลอดการทดลอง 29
ภาพที่ 4.2 ค่าการเจริญจำเพาะของแพลงก์ตอนพืชในแต่ละช่วงของการทดลอง 32
ภาพที่ 4.3 ระยะเวลาในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่าของแพลงก์ตอนพืช
ในแต่ละช่วงการทดลอง 34
ภาพที่ 4.4 ความสมบูรณ์ของเซลล์แพลงก์ตอนพืชในแต่ละช่วงเวลาของการทดลอง 37

บทที่ 1
บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การผลิตหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืชในห้องปฏิบัติการได้รับความนิยมผลิตในเชิงการค้ามากขึ้นในปัจจุบัน โดยเฉพาะพื้นที่ภาคใต้ที่มีการเพาะอนุบาลลูกกุ้งทะเล เช่น พังงา ภูเก็ต กระบี่ สงขลา เป็นต้น การเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชเพื่อเป็นอาหารในการอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อนที่นิยม คือ แพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอม (Diatom) ซึ่งมีอยู่หลายชนิด รวมทั้งคีโตเซอรอส (*Chaetoceros* sp.) (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2544; ทิพาพร ไตรทอง และนงลักษณ์ สำราญราษฎร์, 2550 และ วาสนา อากรรัตน์ และวุฒิชัย อ่อนเอี่ยม, 2555) ซึ่งเป็นแพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอม ชนิดที่ได้รับความนิยมใช้ในการอนุบาลลูกกุ้งทะเลวัยอ่อนระยะซูเอี้ย (zoea stage) มากที่สุด เนื่องจากมีขนาดที่เหมาะสม เพาะขยายพันธุ์ได้ปริมาณมากและง่าย มีคุณค่าทางโภชนาการสูง (Lavens and Sorgeloos, 1996)

อย่างไรก็ตาม การผลิตหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืชในห้องปฏิบัติการต้องควบคุมคุณภาพสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมและมีค่าใช้จ่ายในการผลิตสูง จึงได้มีความพยายามในการปรับปรุงและพัฒนาวิธีการ และอุปกรณ์การเลี้ยง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและลดค่าใช้จ่าย โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพของหัวเชื้อ

การให้แสงไฟและการเติมอากาศเป็นปัจจัยหนึ่งในการผลิตหัวเชื้อคีโตเซอรอส ซึ่งแสงที่ส่องลงไปเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างอาหารหรือกระบวนการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืช ส่วนการเติมอากาศเป็นการเพิ่มก๊าซออกซิเจนในน้ำ และทำให้น้ำเกิดการหมุนเวียน ส่งผลให้แพลงก์ตอนพืชไม่ตกตะกอน เซลล์ได้รับแสงไฟอย่างทั่วถึง ทำให้การเจริญเติบโตดี แต่การให้แสงไฟและเติมอากาศตลอด 24 ชั่วโมง อาจมากเกินความจำเป็น และสิ้นเปลืองค่าไฟฟ้า โดยเฉพาะห้องปฏิบัติการซึ่งดำเนินธุรกิจจำหน่ายหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืช สำหรับการวิจัยในครั้งนี้ จึงต้องการเปรียบเทียบรูปแบบการให้แสงไฟและเติมอากาศที่แตกต่างกัน เพื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในรูปแบบให้แสงไฟและเติมอากาศตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง โดยศึกษาการเจริญเติบโตและคุณภาพของหัวเชื้อ รวมไปถึงต้นทุนการผลิตหัวเชื้อคีโตเซอรอสในรูปแบบดังกล่าว

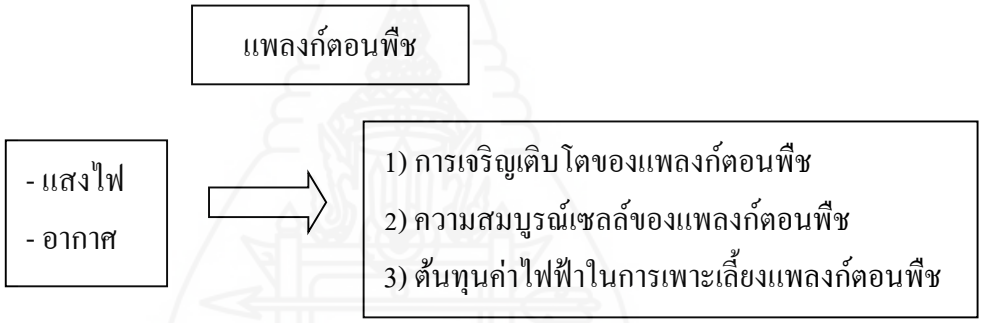
2. วัตถุประสงค์การวิจัย

2.1 เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชที่ให้แสงไฟและเติมอากาศในรูปแบบต่างๆ

2.2 เพื่อศึกษาความสมบูรณ์เซลล์ของแพลงก์ตอนพืชที่ให้แสงไฟและเติมอากาศในรูปแบบต่างๆ

2.3 เพื่อศึกษาต้นทุนค่าไฟฟ้าในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชที่ให้แสงไฟและเติมอากาศในรูปแบบต่างๆ

3. กรอบแนวคิดวิจัย



ภาพที่ 1.1 กรอบแนวคิดการวิจัย

4. สมมุติฐานการวิจัย

4.1 รูปแบบการให้แสงไฟและเติมอากาศมีผลต่อการเจริญเติบโตและความสมบูรณ์เซลล์ของแพลงก์ตอนพืช

4.2 การลดแสงไฟและเติมอากาศสามารถลดต้นทุนค่าไฟฟ้าในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช

5. นิยามศัพท์เฉพาะ

5.1 คีโตเซอรอส (*Chaetoceros* sp.) หมายถึง แพลงก์ตอนพืชชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นสาหร่ายขนาดเล็กที่ล่องลอยอยู่ทั่วไปตามระดับความลึกของน้ำ ใช้เป็นอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อน สาหร่ายเหล่านี้สามารถสังเคราะห์แสงเพื่อสร้างอาหารเอง

5.2 การเจริญเติบโต หมายถึง การเพิ่มจำนวนของแพลงก์ตอนพืช ซึ่งในที่นี้วัดความหนาแน่นของเซลล์และอัตราความเจริญเติบโตจำเพาะ

5.2.1 ความหนาแน่นของเซลล์ หมายถึง จำนวนเซลล์ที่พบต่อปริมาตร 1 มิลลิลิตร

5.2.2 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, μ) หมายถึง ค่าที่บอกความเร็วของการเพิ่มจำนวนเซลล์

5.3 ความสมบูรณ์เซลล์ หมายถึง ลักษณะสารสีภายในเซลล์ โดยให้คะแนนสารสีภายในเซลล์เป็น 4 เกรด คือ A, B, C และ D

แสดงเกณฑ์ความสมบูรณ์ของเซลล์

6. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้รูปแบบการให้แสงไฟและเติมอากาศที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในห้องปฏิบัติการ และสามารถลดต้นทุนการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในห้องปฏิบัติการได้

บทที่ 2
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

การวิจัย เรื่อง ผลของการให้แสงไฟและการเติมอากาศต่อการเจริญเติบโตและความสมบูรณ์เซลล์ของแพลงก์ตอนพืช ผู้วิจัยได้ศึกษาค้นคว้าจากเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ซึ่งจะเสนอตามหัวข้อต่างๆ ดังนี้

1. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับแพลงก์ตอนพืช
2. ชีววิทยาของคีโตเซอรอส
3. การเพาะเลี้ยงคีโตเซอรอส
4. ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับแพลงก์ตอนพืช

แพลงก์ตอนพืช (phytoplankton) หมายถึง สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่อาศัยอยู่ในน้ำ และเคลื่อนที่ไปตามกระแสน้ำ บางชนิดสามารถเคลื่อนที่ได้เล็กน้อย ซึ่งสร้างอาหารได้เองจากการสังเคราะห์แสง มีสารสีในเซลล์ทำให้สามารถดูดซับพลังงานแสงและใช้พลังงานแสงร่วมกับคาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการสังเคราะห์แสงและสร้างสารอินทรีย์ แพลงก์ตอนพืชประกอบด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวซึ่งมีความสำคัญเพราะเป็นอาหารเบื้องต้นของห่วงโซ่อาหารในแหล่งน้ำ ดังนั้นแพลงก์ตอนพืชจึงจัดว่าเป็นผู้ผลิต (producer) (ไพรินทร์ พุฒตาล, 2550)

แพลงก์ตอนพืช เป็นอาหารตามธรรมชาติขั้นพื้นฐานของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ในแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยเป็นจุดเริ่มต้นของการถ่ายทอดพลังงานในห่วงโซ่อาหาร จัดเป็นแหล่งอาหารขนาดใหญ่และมีความสำคัญมากที่สุดไม่ว่าจะเป็นน้ำจืด น้ำกร่อย หรือน้ำทะเล เนื่องจากแพลงก์ตอนส่วนใหญ่มีขนาดเล็ก จึงเหมาะแก่การเป็นอาหารของลูกสัตว์น้ำวัยอ่อน และลูกสัตว์น้ำขนาดเล็ก ชนิดและปริมาณของแพลงก์ตอนในแหล่งน้ำเป็นตัวบ่งชี้ถึงความอุดมสมบูรณ์ของสัตว์น้ำได้ นอกจากจะเป็นอาหารที่สำคัญของสัตว์น้ำ แพลงก์ตอนพืชยังมีประโยชน์ในด้านการรักษาคุณภาพน้ำ โดยขณะที่มีการสังเคราะห์แสงจะมีการปล่อยออกซิเจนออกมาละลายในน้ำ และนำสารอินทรีย์ที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำไปใช้ เช่น แอมโมเนีย ไนเตรท หรือก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยทั่วไปสามารถแบ่งแพลงก์ตอนเป็นสองกลุ่มใหญ่ๆ ตามลักษณะการสังเคราะห์อาหาร คือแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์

เซลล์ของแพลงก์ตอนพืชคล้ายกับเซลล์ของพืช ประกอบด้วยโครงสร้าง 3 ส่วน ได้แก่ ผนังเซลล์ (cell wall) นิวเคลียส (nucleus) และไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ในสาหร่ายสีเขียว (green algae) ที่เรียกว่า คลอโรฟิลล์ (chlorophyll) อยู่ภายในเม็ดคลอโรพลาสต์ การสืบพันธุ์มีทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ รูปร่างลักษณะของแพลงก์ตอนพืชมีหลายลักษณะทั้งที่เป็นกลุ่มเซลล์เดี่ยว หรือเป็นแบบเส้นสาย

แพลงก์ตอนพืชชนิดที่นิยมนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีอยู่หลายกลุ่มด้วยกัน โดยแต่ละชนิดจะนำมาใช้ในเป็นอาหารของสัตว์น้ำที่แตกต่างกันไป ดังนี้

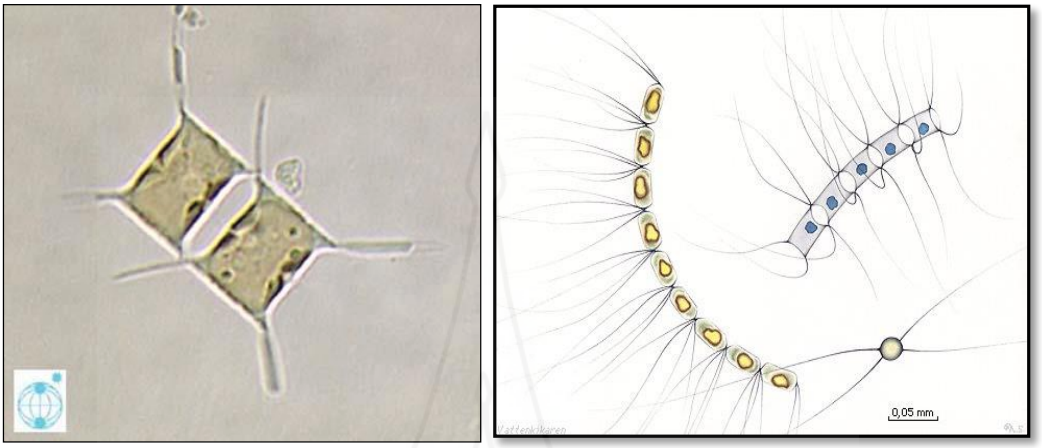
1.1 คีโตเซอรอส (*Chaetoceros calcitrane* หรือ *C. gracilis*) ไดอะตอมเซลล์เดี่ยว เป็นอาหารที่ดีของลูกกุ้งในระยะซูเอีย ลูกหอยระยะ veliger จนถึงระยะลงเกาะพื้น และไรน้ำกร่อย

1.2 สเกลีโตนีมา (*Skeletonema costatum*) เป็นไดอะตอมที่เซลล์มาต่อกันเป็นสายยาว นิยมนำมาใช้เป็นอาหารของลูกกุ้ง

1.3 คลอเรลลา (*Chlorella* sp.) เป็นสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก เซลล์รูปร่างกลม มีผนังเซลล์หนา จึงไม่เหมาะกับการเป็นอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อน นิยมนำมาใช้เป็นอาหารของแพลงก์ตอนสัตว์ และใช้ควบคุมสภาพแวดล้อมในบ่ออนุบาลลูกกุ้งก้ามกราม ลูกปลากะพงขาว และลูกกุ้งทะเล

1.4 สไปรูไลนา (*Spirulina platensis*) หรือสาหร่ายเกลียวทอง เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีลักษณะเป็นเส้นสาย เจริญเติบโตดีในน้ำที่เป็นด่าง มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ช่วยเพิ่มภูมิต้านทาน

2. ชีววิทยาของคีโตเซอรอส



ภาพที่ 2.1 *Chaetoceros* sp.

ที่มา: http://www.vattenkikaren.gu.se/fakta/arter/algae/mikroalg/chaespp/chaespe.html

การจัดลำดับทางอนุกรมวิธานของคีโตเซอรอส

Division Chromophyta

Class Bacillariophyceae

Order Biddulphiales

Suborder Biddulphiineae

Family Chaetocerotacea

Genus *Chaetoceros*

ที่มา:http:// http://www.fisheries.go.th/cf-chan/plankton/phyto-outdoor/diatom-page.htm

2.1 ลักษณะ เป็นสายโซ่ตรงหรือโค้ง เซลล์รูปไข่จนถึงกลม เมื่อมองจากด้าน valve เซลล์รูปสี่เหลี่ยมที่มีขอบตรงเว้าหรือนูน เมื่อมองจากด้าน girdle ด้านกว้าง เว้าหรือนูนก็ได้ ส่วนมุมขวาหรือ valve mantle เป็นรูปทรงกระบอก ที่มุมขวาในแกนยาว มีsetaeลักษณะเป็นหนามยาวมุมละ 1 เส้น setae ที่มุมของแต่ละฝาเซลล์ที่อยู่ติดกันจะแตะกันที่จุดใกล้กับฐาน ทำให้หลายเซลล์

ต่อกันเป็นสาย และเกิดมีช่องว่างระหว่างเซลล์ เรียกว่า อะเพอร์เชอร์หรือฟอรามินา (apertures or foramina) โคนของ setae ขนานกับแกนเพอร์วาลวาร์ หรือ pervavar axis หรือกางออกในแนวตั้งฉากกับแกนของสาย ความยาวของสาย คีโตเซอรอส ส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับการสร้าง setae ปลายสุดของสายซึ่งมักจะสั้นกว่าและหนากว่า setea เส้นอื่น setea เส้นปลายสุดมักขนานกับแกนของสาย (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2542)

2.2 ชนิดที่นิยมเพาะเลี้ยง คีโตเซอรอส เป็นไดอะตอมชนิดหนึ่งที่นิยมเลี้ยงกันแพร่หลาย เนื่องจากหาหัวเชื้อได้สะดวกและเมื่อเจริญเต็มที่แล้วจะยังคงอยู่ได้อีกระยะหนึ่ง โดยที่จะไม่ตายและตกตะกอนทันทีเหมือนกับสาหร่ายชนิดอื่น คีโตเซอรอส ที่เป็นแพลงก์ตอนถาวร และมีความสำคัญในการประมง เนื่องจากเป็นอาหารของสัตว์น้ำ ทั้งในธรรมชาติและการเพาะเลี้ยงในบ่อ มีจำนวนชนิดและปริมาณมากทั่วโลก ส่วนใหญ่เป็นชนิดที่พบในทะเล ประมาณว่ามีมากกว่า 50 ชนิด ที่พบในทะเลเขตร้อน และพบมากบริเวณชายฝั่งทะเลมากกว่าทะเลลึก (สรวิศ เผ่าทองศุข, 2543)

ชนิดของคีโตเซอรอสที่นำมาเพาะเลี้ยงเพื่อเลี้ยงลูกกุ้งมีหลายชนิดด้วยกัน เช่น คีโตเซอรอส คาลซิแทรนซ์ (*C. calcitrans* (Cupp ,1943)) ซึ่งเป็นพันธุ์จากแหล่งน้ำของประเทศฟิลิปปินส์ เป็นเซลล์เดี่ยวๆ มีขนาดเล็กและหนามสั้น ซึ่งจะมีปริมาตรเซลล์ประมาณ 50 ลูกบาศก์ไมครอน แต่ปริมาตรอาจน้อยกว่านี้เช่น 30 ลูกบาศก์ไมครอน บางครั้งคีโตเซอรอสชนิดนี้อาจมีขนาดเล็กมากคือ มีเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ 4-5 ไมครอนก็ได้ เพราะขนาดจะเปลี่ยนแปลงตามสภาพแวดล้อม นอกจากไดอะตอมชนิดนี้จะเป็นชนิดที่เหมาะสมกับการเป็นอาหารของลูกกุ้ง แล้วยังเป็นอาหารที่ดีในการเลี้ยงหอยสองฝาได้อีกด้วย คีโตเซอรอสชนิดที่เป็นเซลล์เดี่ยวอีกชนิดหนึ่ง คือ คีโตเซอรอส กราซิลิส (*C. gracillis*) ในประเทศไต้หวัน เพื่อเป็นอาหารลูกกุ้งพีเนียส ลูกหอยสองฝาโรติเฟอร์ และโคพีพอด (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2542)

2.3 การสืบพันธุ์ คีโตเซอรอสเป็นแพลงก์ตอนพืชที่สามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยและไม่อาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศจะใช้วิธีการแบ่งเซลล์ โดยการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยการที่เซลล์ทั้งสองแยกจากกัน แล้วแต่ละฝาจะสร้างอีกฝาขึ้นมาใหม่ จากการแบ่งเซลล์แบบนี้ทำให้ได้เซลล์ใหม่ที่มีขนาดเล็กลงเรื่อยๆ จึงทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนเซลล์อีกวิธีหนึ่งคือ การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยเซลล์ที่มีการสืบพันธุ์ตามนี้ จะมีเซลล์สืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมีย เมื่อผสมกันแล้วเซลล์ใหม่ที่ได้จะแยกออกจากเซลล์เดิม แล้วเจริญเติบโตต่อไป ซึ่งเซลล์ที่ได้จะมีขนาดใหญ่กว่าเดิม (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2542)

2.4 ชนิดของคีโตเซอรอสที่นำมาเป็นอาหารสำหรับลูกกุ้งวัยอ่อนภายในโรงเพาะฟัก

(ประยูร สุรตระกูล, 2540)

2.4.1 Chaetoceros calcitrans

ลักษณะเซลล์เดี่ยวๆ รูปร่างกลมหรือสี่เหลี่ยมผืนผ้ามี setea 4 เส้น มีความยาวประมาณ 5 ไมครอน ความยาว Apical ประมาณ 5 ไมครอน เมื่อถ่ายภาพจากกล้องอิเล็กตรอนและมองด้วยกล้องจุลทรรศน์ด้วยแสงจะมองเห็นไม่ชัด จะต้องมองด้วยกล้องกำลังขยายสูงโดยใช้แสงแบบ oblique, แสงแบบ polarized, แสงแบบ dark field หรือ phase Contrast ซึ่งจะมีปริมาตรเซลล์ 30-50 ลูกบาศก์ไมโครเมตร มีขนาดเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม เป็นชนิดที่นิยมเลี้ยงกันแพร่หลาย เนื่องจากหาหัวเชื้อได้ง่าย และเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่แล้วยังคงสภาพอยู่ได้ระยะหนึ่งโดยที่จะไม่ตายและตกตะกอนทันทีเหมือนไดอะตอมชนิดอื่น

2.4.2 Chaetoceros gracilis

ลักษณะเซลล์เดี่ยวๆ ไม่เป็นสายโซ่ เมื่อมองทางด้านข้างฝาเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าและฝาเซลล์มีมุมเว้า แกน apical ยาว 9-12 ไมครอน vale mantle สูง ไม่มีร่องบนขอบข้างฝา ซีตีมองเห็นชัดเจน ซีตียกขึ้นเล็กน้อยจากภายในมุมฝา โค้งเข้ามุมจุดกำเนิดและซีตีจะเป็นแนวขนานกันและมองทางด้านหน้าฝาจะเห็นซีตีประกบเป็นแนวเดียวกัน มีคลอมาโตฟอร์ 2 อัน ติดอยู่กับขอบข้างฝาในระยะพักตัวคลอมาโตฟอร์จะอยู่กลางฝาเป็นรูปรี ใกล้กับมุมโค้งของฝา

2.4.3 Chaetoceros muelleri

Lemmermann (1898) เป็นคนแรกที่แยก *C. muelleri* จากทะเลสาบปิดน้ำเค็มใกล้หมู่บ้าน Waternevertorf ที่ชายฝั่ง Baltic ของประเทศเยอรมนี ลักษณะเซลล์อยู่เดี่ยวๆ รูปร่างกลมหรือสี่เหลี่ยมจัตุรัส เมื่อมองด้านข้าง ซีตีขนาดเล็ก บนฝาเซลล์ไม่มีก้านที่ฝาเซลล์ โดยทั่วไปจะอยู่เป็นกลุ่มน้อยมากและเมื่อเซลล์มีขนาดเล็กอาจจะอยู่เป็นกลุ่ม ฝาเซลล์มีความยาวแกน apical อยู่ระหว่าง 5-21 ไมครอน ความยาว transapical กว้าง 3-11 ไมครอน สปอร์มีแนวโน้มจะมีขนาดใหญ่

3. การเพาะเลี้ยงคีโตเซอรอส

การเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชหรือสาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) เพื่อใช้ประโยชน์ในด้านวิทยาศาสตร์พื้นฐานได้นิยมทำกันมานานแล้ว โดยเลี้ยงกันในห้องปฏิบัติการซึ่งต้องการปริมาณไม่มากนัก แต่การเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชเพื่อการอนุบาลลูกสัตว์น้ำได้เริ่มเลี้ยงกันอย่างจริงจังเมื่อประมาณ 50 ปีมาแล้ว หลังจากที่ได้มีนักเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชาวญี่ปุ่นชื่อ มัตซุเอะ (Matsue) สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ไดอะตอมชนิดหนึ่งคือ สเกลีโตนีมา คอสเตตัม (*Skeletonema costatum*) สำหรับใช้

อนุบาลลูกกุ้งระยะอ่อนได้สำเร็จในปี พ.ศ. 2484 ตั้งแต่นั้นเป็นต้นมาได้มีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชอีกหลายชนิดสำหรับอนุบาลลูกสัตว์น้ำชนิดอื่น เช่น ปลา ปู หอย เป็นต้น (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2542)

3.1 การเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช

การเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช หมายถึง การเพิ่มจำนวนของแพลงก์ตอน ซึ่งโดยทั่วไปแบ่งออกเป็น 5 ระยะ คือ

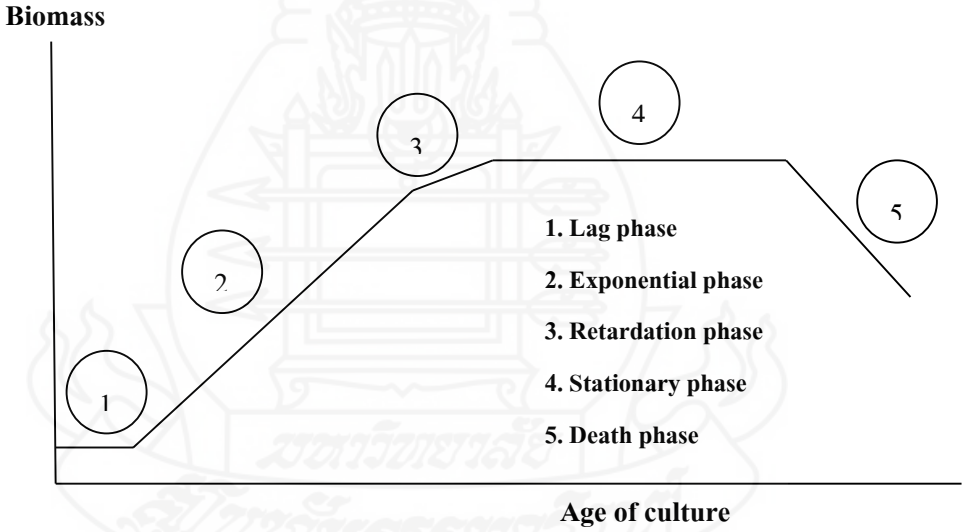
3.1.1 ระยะปรับตัว (Lag phase or inductional phase)

3.1.2 ระยะเอ็กซ์โพเนนเชียล (Exponential phase)

3.1.3 ระยะเฉื่อย (Retardation phase or phase of declining relative growth)

3.1.4 ระยะคงที่ (Stationary phase)

3.1.5 ระยะตาย (Death phase)



ภาพที่ 2.2 การเจริญของแพลงก์ตอนพืชขนาดเล็ก

ที่มา : ลัดดา วงศ์รัตน์ (2544)

3.1.1 ระยะปรับตัว (Lag phase or inductional phase) เป็นระยะที่เซลล์ปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ เช่น แสง อุณหภูมิ และธาตุอาหาร ฯลฯ ระยะนี้แพลงก์ตอนพืชไม่มีการแบ่งเซลล์ ดังนั้นเซลล์ที่ไม่สามารถปรับตัวได้จะตายลง การที่แพลงก์ตอนพืชจะผ่านระยะปรับตัวนี้เร็วมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของเซลล์และความอุดมสมบูรณ์ของอาหารที่เลี้ยง ถ้าสภาพทั้ง 2 อย่างเหมาะสมจะเข้าสู่ระยะที่ 2 เร็วขึ้น

3.1.2 ระยะเอ็กซ์โพเนนเชียล (Exponential phase) เป็นระยะที่แพลงก์ตอนพืชเจริญเติบโตและแพร่ขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว ระยะนี้จะนานเท่าใดขึ้นอยู่กับปริมาณสารอาหารและสมบัติทางฟิสิกส์ เคมีของสิ่งแวดล้อม ลักษณะการเจริญเติบโตในระยะนี้เป็นแบบที่รวดเร็วในระยะแรกและจะค่อยๆ ช้าลงตามลำดับ

3.1.3 ระยะเฉื่อย (Retardation phase or phase of declining relative growth) เป็นช่วงที่เซลล์มีการเจริญเติบโตช้าลง เพราะขาดแคลนอาหาร เนื่องจากปริมาณเซลล์เกิดหนาแน่นเกินไป

3.1.4 ระยะคงที่ (Stationary phase) เป็นระยะที่การเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชหยุดนิ่งเนื่องจากธาตุอาหารน้อยลงและเกิดสารพิษจากกระบวนการเมตาบอลิซึมหรือการสลายตัวของเซลล์เพิ่มมากขึ้น

3.1.5 ระยะตาย (Death phase) เป็นระยะที่เซลล์หยุดการเจริญเติบโตโดยสิ้นเชิง เนื่องจากธาตุอาหารหมดลง เซลล์จะเริ่มตายและการตายจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และรวดเร็วขึ้น

ฉะนั้นความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชเพื่ออนุบาลลูกสัตว์น้ำจึงขึ้นอยู่กับความสามารถของผู้เลี้ยงที่จะควบคุมการเลี้ยงให้มีกราฟการเจริญเติบโตอยู่ในระยะเอ็กซ์โพเนนเชียลนานที่สุดเท่าที่จะทำได้ วิธีการรักษาสภาพการเพาะเลี้ยงให้เหมาะสมเพื่อให้มีการเจริญเติบโตระยะดังกล่าวมี 3 วิธีดังนี้

1) โดยการย้ายเชื้อ (transfer) ย้ายเชื้อแพลงก์ตอนพืชไปสู่ภาชนะที่ใหญ่ขึ้นซึ่งควรทำก่อนที่เซลล์จะเข้าสู่ระยะคงที่ ต่อจากนั้นให้พยายามเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชให้มีปริมาณสูงสุดแล้วจึงนำไปให้ลูกสัตว์น้ำกิน

2) โดยการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง เรียกว่าเป็นวิธีการจัดการเลี้ยงแบบเคโมสเทอริก (chemostatic) คือมีการเติมอาหารและน้ำทะเล เติมลงไปในบ่อเลี้ยงตลอดเวลาในอัตราการไหลเข้าเท่ากับอัตราการไหลของน้ำในบ่อที่นำไปใช้

3) โดยการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง (semicontinuous culture) เป็นวิธีการยืดอายุการเลี้ยงในปริมาณมากๆ คือเลี้ยงแพลงก์ตอนจนมีความหนาแน่นสูงแล้วตักแพลงก์ตอนพืชบางส่วนไปเลี้ยงลูกสัตว์น้ำ ต่อจากนั้นเติมน้ำทะเลและสารอาหารลงไปในบ่อเลี้ยงโดยให้มีอัตราส่วนเท่าของเดิม เมื่อแพลงก์ตอนพืชมีความหนาแน่นก็ตักออกไปได้อีก ทำเช่นนี้ไปเรื่อยๆ

จนกว่าจะมีสภาวะที่ไม่เหมาะสมแล้วค่อยเริ่มทำการเพาะใหม่ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2542)

3.2 การวัดการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช

การศึกษาการเจริญเติบโตแพลงก์ตอนพืชที่ทำการเพาะเลี้ยงนั้นสามารถประเมินหรือทำการ วัดได้หลายวิธีด้วยกัน เช่น การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ การหาน้ำหนักแห้ง การวัด OD (optical density) การนับจำนวนเซลล์ (number) หรือหามวลชีวภาพ (biomass) ของต่อแพลงก์ตอนพืชต่อหน่วยปริมาตรน้ำโดยการจะเลือกใช้วิธีใดนั้นต้องคำนึงถึงความเหมาะสมและข้อจำกัดของแต่ละวิธีตลอดจนชนิดของสาหร่าย อย่างไรก็ตามขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการศึกษาด้วย (จงกล พรมยะ, 2552)

3.2.1 การนับเซลล์ด้วย Hemacytometer counting chamber

เป็นวิธีที่นิยมใช้มากในการวัดการเจริญเติบโตของ อุปกรณ์แพลงก์ตอนพืชที่ใช้คือ กล้องจุลทรรศน์หัวกลับ และสไลด์ Hemacytometer สไลด์ Hemacytometer 1 อัน จะมีตารางสี่เหลี่ยมเล็กๆ 2 ตาราง อยู่พื้นที่ตรงกลางสไลด์ โดยแต่ละตารางมีพื้นที่เท่ากับ 1 ตารางมิลลิเมตร จะมีความลึก 1/10 มิลลิเมตร บริเวณรอบตารางจะล้อมรอบด้วยร่องลึกขนาดใหญ่ให้น้ำขังได้ นิยมใช้สำหรับนับแพลงก์ตอนพืชขนาดเล็ก (0.5 – 10 ไมครอน) สไลด์แบบนี้จุน้ำได้ปริมาตรที่แน่นอน สามารถนับแพลงก์ตอนพืชที่ยังมีชีวิตและตายแล้ว (จงกล พรมยะ, 2552)

ภาพที่ 2.3 สไลด์ Hemacytometer

ที่มา: https://www.pacificlab.com.au/shop/haemocytometers-1/

ในการนับแพลงก์ตอนพืชจะหยดน้ำลงไป 1 หยด และนับจำนวนเซลล์แพลงก์ตอนพืชที่อยู่บนตารางสี่เหลี่ยมและสามารถคำนวณค่าเป็นจำนวนแพลงก์ตอนพืชต่อปริมาตรน้ำได้

ปริมาตรของ Hemacytometer counting chamber (ภายในตารางสี่เหลี่ยม 1 ตาราง)

= ความกว้าง × ความยาว × ความลึก
= 1 มิลลิเมตร × 1 มิลลิเมตร × 0.1 มิลลิเมตร.
= 0.1 เซ็นติเมตร × 0.1 เซ็นติเมตร× 0.01 เซ็นติเมตร
= 0.0001 ลูกบาศก์เซ็นติเมตร หรือ 0.0001 มิลลิลิตร
$=10^{-4}$ มิลลิลิตร

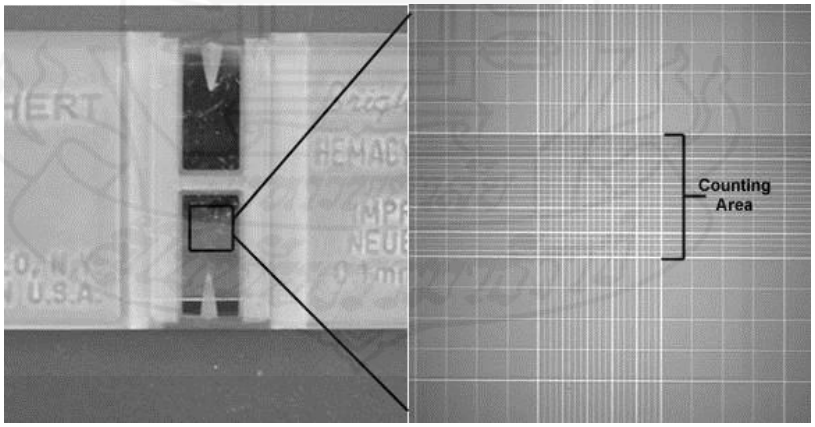
3.2.2 วิธีการใช้ Hemacytometer (จงกล พรมยะ, 2552)

1) หยดตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชที่ต้องการนับลงไป 1 หยด ในช่องใส่ตัวอย่างของสไลด์ Hemacytometer ที่มีกระจกปิดสไลด์ปิดอยู่ ตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชจะกระจายไปทั่วตารางสี่เหลี่ยม

2) วางสไลด์ Hemacytometer ทิ้งไว้ 1 นาที เพื่อให้เซลล์แพลงก์ตอนพืชจมลงสู่พื้นสไลด์

3) วางสไลด์ Hemacytometer บนแท่นกล้องจุลทรรศน์ ปรับกล้องและเพิ่มกำลังขยายจากต่ำไปสูง

4) นับแพลงก์ตอนพืชบนช่องสี่เหลี่ยมตรงกลาง (25 ช่องใหญ่ ซึ่งภายในมีตารางขนาดเล็กจำนวน 16 ช่อง)



ภาพที่ 2.4 แสดงพื้นที่การนับปริมาณเซลล์ของสาหร่าย

ที่มา: http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/reprod/semeneval/hemacytometer.html

มาตรฐานการตรวจสอบคุณภาพแพลงก์ตอน

1) การตรวจสอบด้วยตาเปล่า โดยการตรวจดูการตกตะกอนของแพลงก์ตอน

2) การตรวจสอบทางจุลชีววิทยา โดยการเขี่ยเชื้อบนจานเลี้ยงเชื้อ ตรวจสอบการปนเปื้อน

3) การตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์

(1) ความหนาแน่นเซลล์

(2) ความสมบูรณ์เซลล์

(3) ตัวปนเปื้อน (โปรโตซัว, แพลงก์ตอนอื่นๆ)

3.3 การเพาะขยายหัวเชื้อคีโตเซอรอสในห้องปฏิบัติการ แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ดังต่อไปนี้

3.3.1 การคัดเลือกเซลล์เพื่อให้ได้เซลล์บริสุทธิ์ วิธีการปฏิบัติเพื่อให้ได้เซลล์บริสุทธิ์ (Vonshak, 1986)

1) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และทำให้ปราศจากเชื้อ ด้วยการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นเมื่อได้สต็อคของอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วให้เติมลงไปในน้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ความเค็ม 25-34 พีพีที

2) นำปาสเตอร์ปิเปตหรือ haematocrit capillary ลนไฟตรงส่วนปลายโดยใช้คีมช่วยยึดจับปลายอีกด้านหนึ่ง ลนไฟจนกระทั่งตัวแก้วเริ่มอ่อน ให้นำออกมาจากไฟ แล้วดึงให้ปลายเล็กเรียวและแหลมอย่างรวดเร็ว และหักส่วนปลายที่เล็กและแหลมออกเล็กน้อยให้มีรูพอเหมาะกับชนิดของคีโตเซอรอสที่จะทำการดึงเซลล์

3) หยดตัวอย่างของคีโตเซอรอสที่จะทำการแยกลงบนสไลด์หลุม หรือบนจานเลี้ยงที่ฆ่าเชื้อแล้ว 1 หยด และอีก 6-8 หยด ของน้ำเค็มที่จะนำมาล้างเซลล์คีโตเซอรอส ข้อควรระวังความเค็มของน้ำที่นำมาใช้ล้างเซลล์ ควรเป็นความเค็มเดียวกับน้ำที่ทำการเลี้ยงคีโตเซอรอสอยู่ (25-34 พีพีที)

4) วางสไลด์หลุม หรือจานเลี้ยงเชื้อบนฐานของกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ ปรับภาพจากกล้องให้ชัดด้วยเลนส์ที่มีกำลังขยาย 4x แล้วทำการดึงเซลล์ดังนี้

(1) ปรับให้หยดน้ำที่มีให้เห็นคีโตเซอรอส เลือกเซลล์สมบูรณ์ มีขนาดที่ต้องการและไม่มีตัวปนเปื้อนอื่นๆ เช่น โปรโตซัว

(2) ใช้ส่วนปลายของปาสเตอร์ปิเปตเคลื่อนให้ไปอยู่กับเซลล์เป้าหมาย โดยทุกขั้นตอนให้มองผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำตลอดเวลา ปรับส่วนปลายของปิเปตให้ลดต่ำลงไปในน้ำเพื่อให้เกิดแรงดึงคาปิลาริ่

(3) นำเซลล์ที่ดูดมาได้ ปล่อยลงในน้ำที่จะทำการล้างเซลล์หยดถัดไป และยกปลายหลอดขึ้นมาทันที เพื่อไม่ให้น้ำไหลย้อนกลับเข้ามาในปิเปตอีก

(4) ทำเช่นนี้ไปเรื่อยๆ ประมาณ 2-3 หยด ก็จะได้เซลล์ที่ต้องการเพียงเซลล์เดียว หลังจากนั้นทำเช่นเดิมอีกอย่างน้อย 2-3 หยด พร้อมกับมีการเขี่ยเซลล์ไปมากวนน้ำไปรอบๆ เพื่อให้สิ่งที่ติดกับตัวคีโตเซอรอสหลุดออกไป

5) เมื่อมั่นใจว่า เซลล์ไดอะตอมไม่มีตัวปนเปื้อนเกาะอยู่และสามารถแยกเซลล์คีโตเซอรอสออกจากสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นได้ ให้ดึงเซลล์อีกครั้งหนึ่ง และปล่อยเซลล์ลงในน้ำเค็มที่เติมปุ๋ยแล้วในหลอดทดลองที่มีปริมาตรน้ำอยู่ 10 มิลลิลิตร ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

6) วางหลอดหัวเชื้อให้ได้รับแสงเพื่อให้เซลล์เพิ่มจำนวน ซึ่งใช้เวลาประมาณ 3-7 วัน

7) จากนั้นคุณภาพของเซลล์อีกครั้งหนึ่ง เมื่อพบว่าไม่มีการปนเปื้อนแล้วจึงทำการเพาะขยายต่อไปตามลำดับ

3.3.2 การเพาะขยายหัวเชื้อบริสุทธิ์โดยการเพาะบนจานวุ้น เป็นการเลี้ยงเพื่อให้ปลอดเชื้อแบคทีเรีย และตัวปนเปื้อนที่ไม่ต้องการ เหมาะสำหรับไดอะตอมที่มีขนาด 10 ไมโครเมตร หรือเล็กกว่านั้น สามารถทำได้ 2 วิธี ดังนี้

1) การเขี่ยเชื้อจากหลอดหัวเชื้อ นำลวดเขี่ยเชื้อเผาจนร้อนแดง ปล่อยไว้ให้เย็นแล้วจุ่มลงในน้ำเซลล์จากหลอดหัวเชื้อที่มีคุณภาพสมบูรณ์แล้วขีดลงบนผิวหน้าวุ้นเป็นรูปซิกแซก โดยแบ่งแนวการขีดออกเป็น 3 แนว

2) การเขี่ยหัวเชื้อจากจานเพาะเชื้อ นำลวดเขี่ยฆ่าเชื้อด้วยการเผาไฟจนร้อนแดง ปล่อยให้เย็นเขี่ยหัวเชื้อใหม่ที่ต้องการ โดยเลือกโคโลนีเดี่ยว (ในกรณีที่ต้องการให้หัวเชื้อขึ้นเร็วก็สามารถเพิ่มจำนวนหัวเชื้อได้มากกว่า 1 โคโลนี) จากนั้นทำการขีดลงบนผิวหน้าวุ้น โดยแบ่งแนวการขีดการออกเป็น 3 แถว เมื่อทำการขีดหัวเชื้อลงบนผิวหน้าวุ้น เสร็จแล้วนำจานเพาะเชื้อที่ได้มาทำการปิด parafilm เพื่อป้องกันการปนเปื้อนแล้วนำมาให้แสงและควบคุมอุณหภูมิคงที่ เป็นเวลา 7-14 วัน เมื่อพบว่ามีโคโลนีเดี่ยวเกิดขึ้น จึงนำมาเขี่ยหัวเชื้อลงหลอดทดลอง วางหลอดหัวเชื้อให้ได้รับแสงเพื่อให้เซลล์เพิ่มจำนวนใช้ระยะเวลาประมาณ 3-7 วัน จากนั้นตรวจสอบคุณภาพเซลล์อีกครั้งหนึ่ง เมื่อพบว่าไม่มีการปนเปื้อน แล้วจึงเพาะขยายต่อไปตามลำดับ

3.3.3 การเพาะเลี้ยงภายในห้องปฏิบัติการ การเพาะเลี้ยงภายในห้องปฏิบัติการแบ่งระดับการเพาะเลี้ยงตามขนาดขวดบรรจุน้ำเลี้ยงออกเป็น 2 ระดับ ได้แก่ ระดับที่ 1 ระดับขวดแก้ว 1 ลิตร และ ระดับที่ 2 ระดับขวดแก้ว 2 ลิตร

ระดับที่ 1 เพาะเลี้ยงในขวดแก้วขนาด 1 ลิตร มีขั้นตอนดังนี้

1) การฆ่าเชื้อขวดแก้ว ต้มฆ่าเชื้อขวดแก้วด้วยความร้อน 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2) เตรียมน้ำเลี้ยง โดยใช้น้ำเค็ม 28 พีพีที ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน ต้มฆ่าเชื้อด้วยความร้อน 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที กรอกบรรจุลงในขวดแก้วที่ฆ่าเชื้อแล้วให้มีปริมาตร 900 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่น

3) การเพาะเลี้ยง ใช้หัวเชื้อจากวุ้นปริมาตร 100 มิลิลิตร เติมลงในน้ำเลี้ยงที่เย็นแล้ว เติมปุ๋ย เปิดให้แสงไฟและเติมอากาศ ใช้เวลาเพาะเลี้ยง 48 – 72 ชั่วโมง สามารถนำมาเพาะขยายในระดับต่อไป

ระดับที่ 2 เพาะเลี้ยงในขวดแก้วขนาด 2 ลิตร มีขั้นตอนดังนี้

1) การฆ่าเชื้อขวดแก้ว ต้มฆ่าเชื้อขวดแก้วด้วยความร้อน 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2) เตรียมน้ำเลี้ยง โดยใช้น้ำเค็ม 28 พีพีที ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน ต้มฆ่าเชื้อด้วยความร้อน 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที กรอกบรรจุลงในขวดแก้วที่ฆ่าเชื้อแล้วให้มีปริมาตร 1,800 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่น

3) การเพาะเลี้ยง ใช้หัวเชื้อจากขวดแก้วระดับ 1 ลิตร ปริมาตร 200 มิลิลิตร เติมลงในน้ำเลี้ยงที่เย็นแล้ว เติมปุ๋ย เปิดให้แสงไฟและเติมอากาศ ใช้เวลาเพาะเลี้ยง 48 – 72 ชั่วโมง สามารถนำมาเพาะขยายในระดับต่อไป

หลักการเพาะเลี้ยงคีโตเซอรอส คือการให้ปัจจัยพื้นฐานที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชอย่างเพียงพอ เช่น แสง อุณหภูมิ ความเค็ม ความเป็นกรด-ด่างของน้ำ และธาตุอาหารที่ละลายในน้ำ เป็นต้น ซึ่งจะมีความแตกต่างกันตามชนิดของแพลงก์ตอนพืช คีโตเซอรอสเป็นแพลงก์ตอนพืชที่เลี้ยงง่าย ขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว และผลิตได้ปริมาณมากในช่วงเวลาอันสั้น เนื่องจากสามารถทนความเค็มในช่วงกว้าง และทนอุณหภูมิที่สูงๆ ได้ และไม่ปล่อยสารพิษออกมา ทำให้ได้รับความนิยมในการนำไปใช้อนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อน

3.4 หลักสำคัญของการเพาะเลี้ยงคีโตเซอรอส เทคนิคในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชเพื่อการอนุบาลสัตว์น้ำมีข้อควรคำนึง 4 ประการดังต่อไปนี้

3.4.1 พันธุ์ที่เหมาะสม โดยทั่วไปสายพันธุ์หรือชนิดที่นำมาเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายนั้นได้มาจากสายพันธุ์ในท้องถิ่น (Local strains) ทั้งนั้น ตัวอย่างเช่น *Skeletonema costatum* แยกสายพันธุ์มาจากไต้หวัน *Chaetoceros calcitrans* แยกสายพันธุ์ในฟิลิปปินส์ หรืออาจจะนำสายพันธุ์จากแหล่งอื่นมาเพาะเลี้ยง ซึ่งสายพันธุ์นั้นๆ สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของท้องถิ่น

3.4.2 การเก็บรักษาสต๊อค การเก็บรักษาสต๊อคสายพันธุ์ที่เลี้ยงให้อยู่ได้นานเป็นเรื่องที่สำคัญมากฉะนั้นเรื่องที่ควรคำนึงถึงมากที่สุดคือสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับสายพันธุ์ที่ต้องการเก็บ รวมทั้งมีการเพาะเชื้อใหม่ (Subculture) เป็นระยะเพื่อให้การเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชไม่ขาดตอนและอยู่ในสภาพที่สมบูรณ์สำหรับการขยายพันธุ์ต่อไป ข้อควรคำนึงถึงในการเลี้ยงอีกข้อก็คือ การฆ่าเชื้อภาชนะทุกใบ สารอาหาร วัสดุ และเครื่องมือทุกชิ้นในการเลี้ยง

3.4.3 มีความรู้เรื่องสภาพการเลี้ยง ผู้เลี้ยงควรมีความรอบรู้เรื่องสภาพการเลี้ยงทุกเรื่อง เช่น อุณหภูมิ ความเค็มน้ำ ความเข้มแสง ระยะเวลาที่ให้แสง สารอาหาร การให้อาหาร การให้อากาศ และวิธีการขยายพันธุ์จากห้องปฏิบัติการไปสู่ถังเลี้ยงกลางแจ้ง

3.4.4 สามารถทำนายพัฒนาการของการเพาะเลี้ยงได้ ผู้เลี้ยงควรจะสามารถทำนายความหนาแน่นของเซลล์ที่จะเกิดขึ้นได้ล่วงหน้า รวมทั้งช่วงเวลา (ชั่วโมงต่อวัน) ที่จะเก็บผลผลิตได้ด้วย เพื่อว่าจะได้เตรียมปริมาณอาหารให้แก่ลูกกุ้งได้ทันเวลาที่ต้องการ

3.5 ปัจจัยที่มีความจำเป็นในการเจริญเติบโตของคีโตเซอรอส ได้แก่

3.5.1 แสง เนื่องจากคีโตเซอรอส เป็นแพลงก์ตอนพืช แสงจึงเป็นสิ่งจำเป็นในการเจริญเติบโต เพราะคีโตเซอรอสต้องได้รับแสงเพื่อนำไปใช้ในการสร้างอาหาร โดยอาศัยกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งแสงที่ให้อาจเป็นแสงจากธรรมชาติหรือแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ก็ได้ ในการเพาะเลี้ยงควรจัดให้ได้รับแสงอย่างเพียงพอและทั่วถึง เพราะถ้าหากได้รับแสงไม่เพียงพอจะทำให้ไม่มีการเจริญเติบโต ความเข้มแสงที่เหมาะสมมีค่าประมาณ 1,000 – 4,000 ลักซ์

3.5.2 อุณหภูมิ อุณหภูมิของน้ำมีผลต่อการแบ่งเซลล์ของคีโตเซอรอส เท่าๆ กับความเข้มแสง โดยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นความเข้มแสงจะลดลง และเมื่ออุณหภูมิลดต่ำลงความเข้มแสงก็จะเพิ่มขึ้น อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายควรจะอยู่ระหว่าง 20 -25 องศาเซลเซียส (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2542)

3.5.3 ความเค็ม แพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดจะสามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงความเค็มที่แตกต่างกัน โดยส่วนใหญ่แล้วแพลงก์ตอนพืชจะเจริญได้ในน้ำที่มีความเค็มเปลี่ยนแปลงในช่วงกว้างตั้งแต่ 5 - 40 พีพีที ส่วนคีโตเซอรอสสามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำที่มีความเค็มเปลี่ยนแปลงตั้งแต่ 10 – 35 พีพีที

ลัดดา วงศ์รัตน์ (2543) รายงานว่า ความเค็มเป็นสิ่งที่สำคัญยิ่งต่อการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช โดยระดับความเค็มที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชจะอยู่ระหว่าง 22 – 36 พีพีที

3.5.4 ความเป็นกรด – ด่าง (pH) แพลงก์ตอนน้ำเค็มโดยทั่วไปจะเจริญเติบโตได้ดีในน้ำทะเลปกติ ซึ่งมีค่าความเป็นกรด – ด่าง อยู่ระหว่าง 7.8-8.2 (ธิดา เพชรมณี, 2542) โดยการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืชจะส่งผลให้น้ำทะเลมีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง เพิ่มขึ้น ส่วนการหายใจนั้นจะทำให้น้ำมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ลดลง โดยคีโตเซอรอสสามารถทนต่อสภาพความเป็นกรดด่างได้ดี

3.5.5 ธาตุอาหารที่ละลายในน้ำ โดยทั่วไปแล้วแพลงก์ตอนพืชจะได้รับธาตุอาหารจากน้ำทะเลธรรมชาติอย่างพอเพียงสำหรับการเจริญเติบโต แต่เมื่อถูกนำมาเลี้ยงจึงทำให้แพลงก์ตอนพืชต้องดำรงชีวิตอยู่ในพื้นที่จำกัด และมีความหนาแน่นมาก ซึ่งหากแพลงก์ตอนพืชได้รับอาหารที่ไม่เพียงพอหรือไม่เหมาะสมก็จะส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนได้ ดังนั้นในการเลี้ยงแพลงก์ตอนจึงต้องมีการเพิ่มธาตุอาหารให้เพียงพอต่อความต้องการของแพลงก์ตอนพืชเนื่องจากสูตรอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชนั้นมีอยู่ด้วยกันหลายสูตร ซึ่งเหมาะสมกับแพลงก์ตอนต่างชนิดกัน และในสูตรอาหารแต่ละสูตรจะประกอบไปด้วยสารอาหารหลายชนิดที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช จึงควรเลือกสูตรอหารที่เหมาะสมกับชนิดของแพลงก์ตอนที่จะเลี้ยงมากที่สุด สำหรับตีโตเซอรอสนั้นจัดอยู่ในกลุ่มของไดอะตอม ซึ่งมีผนังเซลล์เป็นพวกซิลิกา ดังนั้นในสูตรอาหารจึงจำเป็นต้องมีพวกซิลิเกตเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย เพื่อนำไปใช้ในการสร้างผนังเซลล์ (Taguchi, 1987) เมื่อแบ่งตามปริมาณธาตุอาหารที่พืชต้องการใช้ในการเจริญเติบโตสามารถแบ่งธาตุอาหารออกเป็น 2 ประเภท คือ

1) ธาตุอาหารหลัก (Macronutrients) ประกอบด้วย ธาตุอาหารที่แพลงก์ตอนทุกชนิดต้องการใช้ปริมาณมากเพื่อการเจริญเติบโต ได้แก่ คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ โปแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียม

2) ธาตุอาหารรอง (Micronutrients) ประกอบด้วย ธาตุอาหารที่พืชต้องการใช้ปริมาณค่อนข้างน้อย ซึ่งเมื่อเติมลงในอาหารจะช่วยให้สาหร่ายเจริญเติบโตดีขึ้น ถ้าไม่ใช้การเจริญเติบโตจะช้าลงกว่าเล็กน้อย แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ

(1) ธาตุอาหารรองอนินทรีย์ (Inorganic micronutrients) ธาตุอาหารรองอนินทรีย์ที่แพลงก์ตอนส่วนมากต้องการใช้ ได้แก่ เหล็ก แมงกานีส แคลเซียม สังกะสี ทองแดง โคบอลท์ และโบรอน ส่วนธาตุต่อไปนี้แพลงก์ตอนกลุ่มต้องการ บางกลุ่มไม่ต้องการ เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินต้องการโซเดียม ไดอะตอมต้องการซิลิกา

(2) ธาตุอาหารรองอินทรีย์ (Organic micronutrients) ประกอบด้วย สารประกอบอินทรีย์แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ คาร์โบไฮเดรต เกลืออินทรีย์หรือสารประกอบที่มีเกลืออินทรีย์อยู่ด้วย และวิตามิน

4. ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

4.1 การศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช โดยการควบคุมระยะเวลาการให้แสงไฟ

คมเพชร ไทยเฉลิมชาติ (2545) ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans* ที่มีการเพาะเลี้ยงโดยควบคุมการให้แสง เพื่อทราบอัตราความต้องการแสงที่เหมาะสมในการเจริญเติบ และการสังเคราะห์รงควัตถุ ด้วยวิธีการเปิด-ปิดแสง ภายใต้ระยะเวลาที่ต่างกัน คือ ให้แสงช่วงเปิด-ปิด 24 : 0 ชั่วโมง, เปิด-ปิด 12 : 12 ชั่วโมง และเปิด-ปิดแสง 8 : 16 ชั่วโมง พบว่า การให้แสงช่วงเปิด-ปิด 24 : 0 ชั่วโมง เป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *C. Calcitrans* การให้แสงที่ช่วงเวลาเปิด-ปิด 8 : 16 ชั่วโมง เป็นระดับที่เหมาะสมที่สุดในการสร้างรงควัตถุของ *C. Calcitrans* แต่ในช่วงระยะเวลาการให้แสงที่ 24 : 0 ชั่วโมง และ 12 : 12 ชั่วโมง มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะไม่แตกต่างกัน ดังนั้น จึงไม่จำเป็นต้องเปิดแสงตลอด 24 ชั่วโมง เพื่อลดต้นทุนการเพาะเลี้ยงในด้านพลังงาน สามารถให้แสงเพียง 12 ชั่วโมง ก็เพียงพอต่อความต้องการใช้แสงในการเจริญเติบโตของ *C. Calcitrans*

Falkowski (1984) ได้ศึกษาผลของแสงต่อการสังเคราะห์รงควัตถุภายในเซลล์ไดอะตอม โดยทำการทดลองส่องแสงไฟ 12 ชั่วโมง สลับกับการเปิดไฟ 12 ชั่วโมง เพื่อศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ ภายในเซลล์ของไดอะตอม กลุ่มทาลัสสิโอสิร่า วิสฟอจิอาย (*Thalassiosira weisflogii*) พบว่าปริมาณการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์-เอภายในเซลล์ของ *T. weisflogii* จะแปรผันตรงกับระดับความเข้มของแสงไฟ กล่าวคือ การสังเคราะห์คลอโรฟิลล์-เอจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นมากตามระดับความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้นและจะลดปริมาณการสังเคราะห์น้อยลงเมื่อไม่ได้รับแสงไฟ แสงจึงมีผลอย่างยิ่งต่อการสังเคราะห์รงควัตถุหรือที่เรียกว่าคลอโรฟิลล์-เอ ซึ่งมีความสำคัญมากต่อกระบวนการสร้างอาหารภายในเซลล์ของไดอะตอม

Pal, Singh และ Azam (2013) ทดลองเพาะเลี้ยงคีโตเซอรอส (*Chaetoceros muelleri*) ภายในห้องปฏิบัติการ โดยเปรียบเทียบระดับความเข้มแสงที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของคีโตเซอรอส ใช้ระดับความเข้มแสง 6 ระดับ คือ 0, 500, 1,000, 1,500, 2,000 และ 2,500 ลักซ์ ทำการนับความหนาแน่นเซลล์ทุก 24 ชั่วโมง จนตลอดสิ้นสุดการทดลอง 168 ชั่วโมง (7 วัน) จากผลการทดลองพบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ที่ระดับความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ ให้ความหนาแน่นเซลล์ของคีโตเซอรอสมากที่สุด รองลงมาคือชุดที่เพาะด้วยระดับความเข้มแสง 1,500 ลักซ์ ซึ่งได้ค่าความหนาแน่นเซลล์ที่ใกล้เคียงกัน

4.2 การศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชและต้นทุนการเพาะเลี้ยง โดยการควบคุมระยะเวลาการเติมอากาศ

วุฒิชัย อ่อนเอี่ยม และ วิสุทธิ์ พรมเอี่ยม (2552) ทดลองเพาะเลี้ยงคีโตเซอรอสภายในห้องปฏิบัติการในรูปแบบที่เติมลมลงไปในภาชนะเพาะเลี้ยงช่วงเวลาหนึ่ง สลับกับการหยุดลมช่วงเวลาหนึ่ง โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง พบว่าชุดการทดลองที่เปิดลมจำนวน 24 ชั่วโมง 12 ชั่วโมง และ 8 ชั่วโมงต่อวัน มีปริมาณความหนาแน่นเซลล์ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) และมีปริมาณความหนาแน่นเซลล์มากกว่าชุดที่เปิดลมจำนวน 6 ชั่วโมงต่อวันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ส่วนในด้านต้นทุนการผลิต ชุดที่เปิดลมจำนวน 12, 8 และ 6 ชั่วโมงต่อวันสามารถลดต้นทุนการผลิตลงได้ถึง 10.94%, 19.49% และ 23.07% ตามลำดับ

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาวิจัย เรื่อง ผลของการให้แสงไฟและการเติมอากาศต่อการเจริญเติบโตและความสมบูรณ์เซลล์ของแพลงก์ตอนพืช มีวิธีดำเนินการวิจัย ดังนี้

1. รูปแบบการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) มี 4 ทรีตเมนต์ แต่ละทรีตเมนต์มี 3 ซ้ำ หน่วยการทดลองคือ คีโตเซอรอส ดังนี้

ทรีตเมนต์ที่ 1 เปิดแสงไฟและเติมอากาศต่อเนื่อง 24 ชั่วโมงต่อวัน (ชุดควบคุม)

ทรีตเมนต์ที่ 2 เปิดแสงไฟและเติมอากาศ 2 ชั่วโมงติดต่อกัน สลับกับปิดแสงไฟและไม่เติมอากาศ 2 ชั่วโมงติดต่อกัน จนได้รับแสงไฟและเติมอากาศครบ 12 ชั่วโมงต่อวัน

ทรีตเมนต์ที่ 3 เปิดแสงไฟและเติมอากาศ 2 ชั่วโมงติดต่อกัน สลับกับปิดแสงไฟและไม่เติมอากาศ 4 ชั่วโมงติดต่อกัน จนได้รับแสงไฟและเติมอากาศครบ 8 ชั่วโมงต่อวัน

ทรีตเมนต์ที่ 4 เปิดแสงไฟและเติมอากาศ 2 ชั่วโมงติดต่อกัน สลับกับปิดแสงไฟและไม่เติมอากาศ 6 ชั่วโมงติดต่อกัน จนได้รับแสงไฟและเติมอากาศครบ 6 ชั่วโมงต่อวัน

ตารางที่ 3.1 แสดงเวลาในการเปิด – ปิดแสงไฟและการเติมอากาศในรอบวัน

ทรีตเมนต์	ช่วงเวลาการเปิด-ปิดแสงไฟและการเติมอากาศในรอบวัน												รวมระยะเวลา (ชั่วโมงต่อวัน)
	06.00 – 08.00	08.00 – 10.00	10.00 – 12.00	12.00 – 14.00	14.00 – 16.00	16.00 – 18.00	18.00 – 20.00	20.00 – 22.00	22.00 – 24.00	24.00 – 02.00	02.00 – 04.00	04.00 – 06.00	
ทรีตเมนต์ที่ 1 (ชุดควบคุม)	←	–	–	–	–	–	–	–	–	→			24
ทรีตเมนต์ที่ 2	↔		↔		↔		↔		↔		↔		12
ทรีตเมนต์ที่ 3	↔			↔			↔			↔			8
ทรีตเมนต์ที่ 4	↔				↔				↔				6

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงคีโตเซอรอสภายในห้องปฏิบัติการ

2.1.1 หัวเชื้อคีโตเซอรอส (*Chaetoceros* sp.)

2.1.2 น้ำทะเลต้มที่มีความเค็ม 25 ppt

2.1.3 ปุ๋ยสูตร AGP (ปุ๋ยเกรดการค้า)

2.1.4 ขวดแก้วขนาด 2 ลิตร

2.1.5 สำลี

2.1.6 หลอดไฟแบบ cool white fluorescent

2.1.7 เครื่องวัดความเข้มแสง Light meter Lux Meters รุ่น DT-1309

2.1.8 เครื่องวัดความเค็ม (Hand Refractometer) รุ่น Master-50H ยี่ห้อ ATAGO

2.1.9 หม้อนึ่งความดันสูง (Autoclave) รุ่น HVE – 50 ยี่ห้อ HIRAYAMA

2.1.10 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น Halo VIS-10 ยี่ห้อ Dynamica

2.1.11 เครื่องวัด pH รุ่น STARTER 3100 ยี่ห้อ Ohaus

2.1.12 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ได้แก่ กระดาษกรองขนาด 0.45 ไมครอน และครื่องแก้วในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

2.2 อุปกรณ์ในการตรวจสอบคุณภาพไดอะตอม

2.2.1 กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา (Compound microscope) ใช้กำลังขยาย 400 เท่า

2.2.2 สไลด์นับเม็ดเลือด (Hemacytometer) ยี่ห้อ Boeco German

2.2.3 Automatic pipette

2.2.4 Pipette tips

3. วิธีการวิจัย

3.1 ขั้นเตรียมการก่อนการทดลอง

3.1.1 ขั้นตอนการเตรียมน้ำ

1) ดึงน้ำทะเลผ่านถุงกรองน้ำลงบ่อเก็บน้ำ ปรับคุณภาพน้ำให้มีความเค็ม 25 ppt , อัลคาไล นิตี้ 130 mg/l as $CaCO_3$, pH 7.8-8.5

2) ดึงน้ำผ่านตัวกรองน้ำ ใส่ขวดขนาด 2 ลิตรนำไปฆ่าเชื้อด้วยการ Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

3.1.2 การเตรียมปุ๋ย

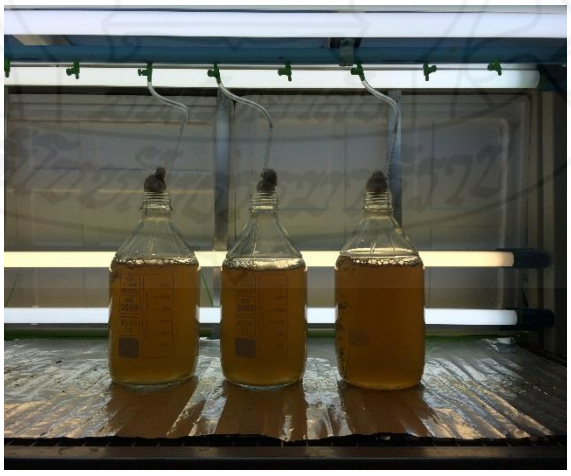
1) ใช้คือ สูตร AGP (ปุ๋ยเกรดการค้า)

2) สารเคมีแต่ละชนิดละลายในน้ำกลั่นในอัตราส่วนที่กำหนด

3) นำสารละลายปุ๋ยที่ได้ไปฆ่าเชื้อด้วยการ Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

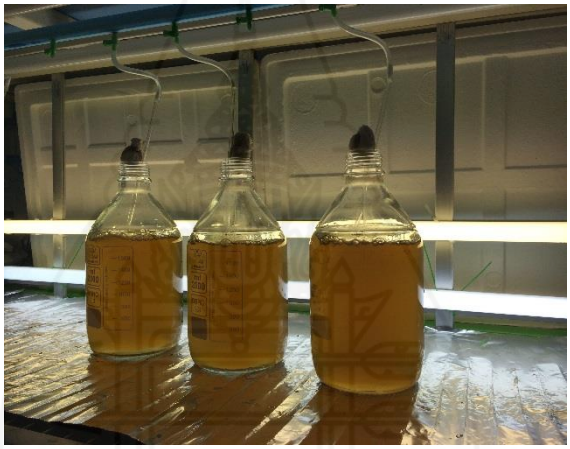
4) ทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำไปใช้ อัตราการใช้ 1 ml/L

3.2 ขั้นตอนการเลี้ยงหัวเชื้อคีโตเซอรอส ทดลองเพาะเลี้ยงคีโตเซอรอสภายในห้องปฏิบัติการ โดยทำการเพาะเลี้ยงคีโตเซอรอสในขวดแก้วขนาด 2 ลิตร ใช้น้ำทะเลต้มที่มีความเค็ม 25 ppt ควบคุมปริมาณเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 1.2×10^5 เซลล์/มล. ควบคุมอุณหภูมิอยู่ที่ 25-27 องศาเซลเซียส ความเข้มแสงประมาณ 3,000 ลักซ์ และใช้ปุ๋ยสูตร AGP การเพาะเลี้ยงหัวเชื้อเป็นเวลา 84 ชั่วโมง

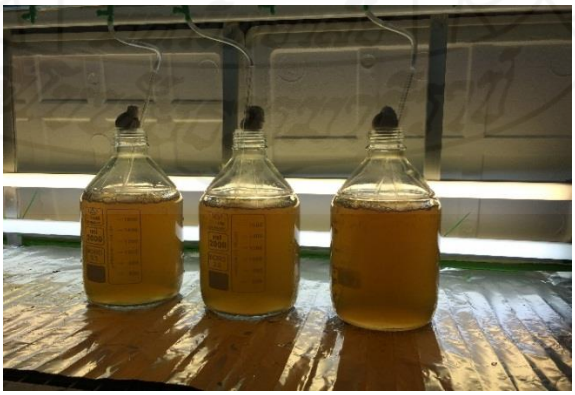


ภาพที่ 3.1 แสดงการทดลองในทรีตเมนต์ที่ 1

ภาพที่ 3.2 แสดงการทดลองในทรีตเมนต์ที่ 2



ภาพที่ 3.3 แสดงการทดลองในทรีตเมนต์ที่ 3



ภาพที่ 3.4 แสดงการทดลองในทรีตเมนต์ที่ 4

3.3 การเก็บรวบรวมข้อมูล ทำการเก็บข้อมูลเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและศึกษาคุณภาพของหัวเชื้อคีโตเซอรอสตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ของการเพาะขยาย และทุกๆ 6 ชั่วโมงจนครบชั่วโมงที่ 84 ของการเพาะขยาย ดังนี้

3.3.1 ตรวจสอบความหนาแน่นเซลล์ ทำการสุ่มตรวจนับความหนาแน่นเซลล์ของคีโตเซอรอสในแต่ละชุดการทดลองในช่วงระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 84 ชั่วโมง โดยใช้ Hemacytometer นับเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยเขย่าตัวอย่างเพื่อไม่ให้เซลล์ตกตะกอน แล้วนำ automatic pipette ดูดตัวอย่างมา 10 ไมโครลิตร ใส่ลงใน Hemacytometer ทิ้งไว้ประมาณ 1 นาที เพื่อให้เซลล์ตกตะกอน จากนั้นนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใช้เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 40x นับจำนวนเซลล์และตรวจสอบความหนาแน่นเซลล์ พร้อมบันทึกข้อมูลความหนาแน่นเซลล์ที่ช่วงเวลา เริ่มต้น และทุกๆ 6 ชั่วโมงของการเพาะขยายจนครบชั่วโมงที่ 84

3.3.2 วิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของคีโตเซอรอส (Specific growth, μ) คำนวณได้จากสมการเส้นตรง (slope) ดังนั้นเมื่อพล็อตกราฟระหว่างเวลากับค่า In ปริมาณเซลล์ โดยให้แกน X เป็นเวลา แกน Y ปริมาณเซลล์ ซึ่งจะได้เส้นตรงช่วงที่เซลล์มีการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง Log phase ซึ่งจะหาความชันของเส้นตรงในช่วง Log phase ก็จะได้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ นอกจากนี้ยังคำนวณได้จากสูตรคำนวณดังนี้ (specific growth rate, μ) เป็นค่าที่บอกความเร็วของการเพิ่มจำนวนเซลล์ ยิ่งมีค่ามาก ยิ่งเพิ่มจำนวนเซลล์ได้รวดเร็ว ถ้าเซลล์ไม่มีการเจริญ ค่า μ มีค่า = 0

หาได้จากสูตร $$\mu = \frac{\ln (X_t) - \ln (X_0)}{t - t_0}$$

โดยที่ μ = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

X_t = ปริมาณเซลล์เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา t ชั่วโมง

X_0 = ปริมาณเซลล์เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา t_0 ชั่วโมง

t = เวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์ในช่วง X_t

t_0 = เวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์ในช่วง X_0

โดยที่เวลา t และ t_0 จะเป็นช่วงเวลาที่เซลล์เจริญอยู่ในช่วง Log phase อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ(specific growth rate, μ) เป็นค่าที่บอกความเร็วของการเพิ่มจำนวนเซลล์ ยิ่งมีค่ามาก ยิ่งเพิ่มจำนวนเซลล์ได้รวดเร็ว ถ้าเซลล์ไม่มีการเจริญ ค่า μ มีค่า = 0

3.3.3 ระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่า (Generation time, G) การคำนวณหาระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่า (Generation time, G) คำนวณได้ดังนี้

$$G = \frac{\ln 2}{\mu}$$

เมื่อ ln2 มีค่าเท่ากับ 0.693 แทนค่า จะได้

$$\text{Generation time; } G = \frac{0.693}{\mu}$$

โดยที่ μ = อัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate, μ)

3.3.4 ตรวจสอบความสมบูรณ์เซลล์ การศึกษาคุณภาพของหัวเชื้อทำได้โดย การตรวจสอบความสมบูรณ์เซลล์ซึ่งมีวิธีการดังนี้

ความสมบูรณ์เซลล์ หมายถึง ลักษณะสารสีภายในเซลล์คีโตเซอรอส แล้วให้คะแนนสารสีภายในเซลล์ แบ่งออกเป็น 4 เกรด คือ A, B, C และ D โดยที่เกรด A มีลักษณะของไซโตพลาสซึมเต็มเซลล์ เกรด B มีลักษณะของไซโตพลาสซึมเกินครึ่งเซลล์แต่ไม่เต็มเซลล์ เกรด C มีลักษณะของไซโตพลาสซึมครึ่งเซลล์ และเกรด D มีลักษณะของไซโตพลาสซึมน้อยมากจนเกือบไม่พบภายในเซลล์ ซึ่งลักษณะสารสีภายในเซลล์คีโตเซอรอสจะมีสีน้ำตาล (ดัดแปลงจาก Creswell, 2010)

แสดงเกณฑ์ความสมบูรณ์ของเซลล์

วัดความสมบูรณ์เซลล์โดยการสุ่มเลือกตัวอย่างเซลล์จำนวน 100 เซลล์และดูลักษณะสารสีภายในเซลล์แล้วให้คะแนนสารสีภายในเซลล์เป็นเกรด A, B, C และ D โดยเลือกนับจำนวนเซลล์ที่ได้เกรด A แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์ของเซลล์โดยคำนวณได้จากสมการนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์เซลล์} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่ได้เกรด A} \times 100}{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมด}}$$

3.4 บันทึกต้นทุนในการเพาะเลี้ยง เปรียบเทียบต้นทุนค่าไฟฟ้าของการเพาะเลี้ยงคีโตเซอรอสของแต่ละทรีตเมนต์ เพื่อหาแนวทางการลดต้นทุนการผลิต โดยที่ไม่ส่งผลกระทบเสียหายต่อคุณภาพเซลล์ของหัวเชื้อคีโตเซอรอส โดยทำการบันทึกต้นทุนค่าไฟฟ้าที่ใช้ในการทดลองแต่ละทรีตเมนต์

4. สถานที่ที่ใช้ในการทดลองและเก็บข้อมูล

สถานที่ดำเนินการวิจัยคือ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน อำเภอตะกั่วทุ่ง จังหวัดพังงา

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธี วิเคราะห์หาความแปรปรวน (Analysis of Variance : ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแต่ละชุดการทดลองโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

6. ระยะเวลาในการทดลอง

ระยะเวลาในการทดลอง 15 วัน ตั้งแต่วันที่ 1 มีนาคม 2557 – 15 มีนาคม 2557

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษา ผลของการให้แสงไฟและการเติมอากาศต่อการเจริญเติบโตและความสมบูรณ์เซลล์ของแพลงก์ตอนพืช

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล แบ่งออกเป็น 3 ตอน มีรายละเอียดดังนี้

ตอนที่ 1 การเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช

ตอนที่ 2 ความสมบูรณ์เซลล์ของแพลงก์ตอนพืช

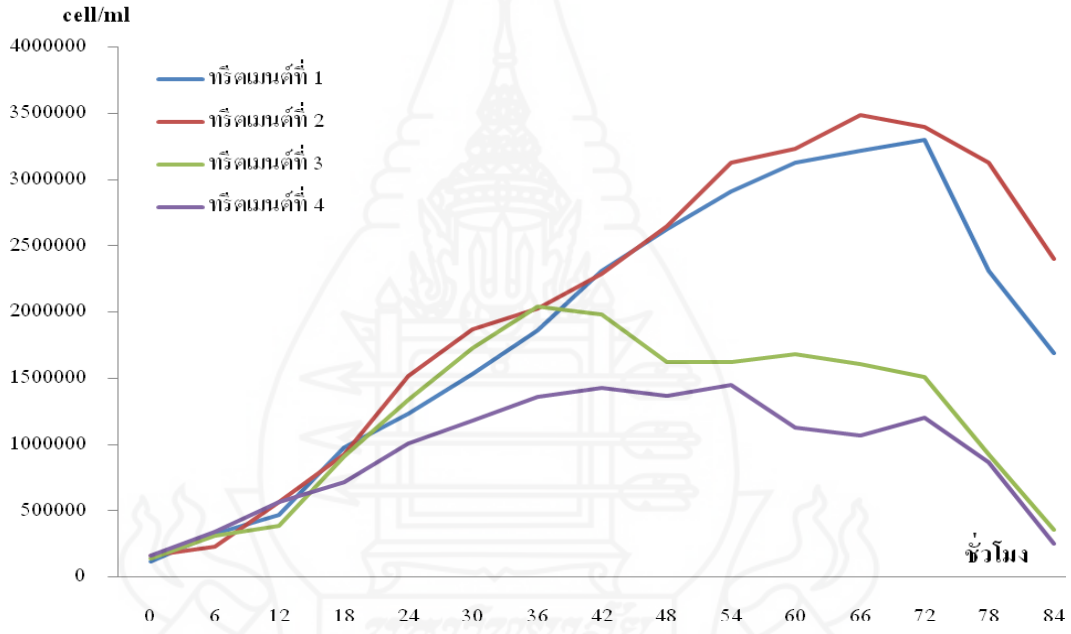
ตอนที 3 ต้นทุนค่าไฟฟ้าในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช

ตอนที่ 1 การเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช

1.1 ความหนาแน่นของเซลล์

จากการทดลองเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชภายในห้องปฏิบัติการ โดยทำการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในขวดแก้วขนาด 2 ลิตร ใช้น้ำทะเลต้มที่มีความเค็ม 25 ppt ควบคุมปริมาณเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 1.2×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ควบคุมอุณหภูมิอยู่ที่ 25-27 องศาเซลเซียส ความเข้มแสงประมาณ 3,000 ลักซ์ และใช้ปุ๋ยสูตร AGP ทำการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อเป็นเวลา 84 ชั่วโมง แบ่งการทดลองเป็น 4 ทรีตเมนต์ คือ ทรีตเมนต์ที่ 1 (ชุดควบคุม) เปิดแสงไฟและการเติมอากาศตลอดการเพาะเลี้ยงเป็นเวลารวม 24 ชั่วโมง/วัน และทรีตเมนต์ที่ 2-4 เปิดแสงไฟและการเติมอากาศตลอดการเพาะเลี้ยงเป็นเวลารวม 12 ชั่วโมง/วัน, 8 ชั่วโมง/วัน และ 6 ชั่วโมง/วัน ตามลำดับ ทรีตเมนต์ละ 3 ซ้ำ พบว่า ทรีตเมนต์ที่ 1 และ 2 มีการเพิ่มขึ้นของเซลล์แพลงก์ตอนพืชอย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง และเริ่มชะลอการเจริญเติบโตในชั่วโมงที่ 72 และ 66 ตามลำดับ ขณะที่ทรีตเมนต์ที่ 3 และ 4 มีการเจริญเติบโตน้อยกว่า เมื่อวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงพบว่า ทรีตเมนต์ที่ 1 มีความหนาแน่นของเซลล์สูงสุดในชั่วโมงที่ 72 โดยมีความหนาแน่นของเซลล์เท่ากับ $3.30 \times 10^6 \pm 2.30 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร และเริ่มเข้าสู่ระยะ Lag phase ซึ่งเป็นระยะที่มีจำนวนเซลล์ลดลงในชั่วโมงที่ 78 ทรีตเมต์ที่ 2 มีการเจริญเติบโตสูงสุดในชั่วโมงที่ 66 (จำนวนเซลล์เท่ากับ $3.49 \times 10^6 \pm 2.40 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร) และเริ่มเข้าสู่ระยะ Lag phase ในชั่วโมงที่ 84 ของการทดลอง ความหนาแน่นของเซลล์คงเหลือเพียง $2.40 \times 10^6 \pm 1.70 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร ทรีตเมนต์ที่ 3 มี

จำนวนเซลล์สูงสุดในชั่วโมงที่ 36 ความหนาแน่นของเซลล์เท่ากับ $2.04 \times 10^6 \pm 1.40 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร และเริ่มลดลงในชั่วโมงที่ 48 ของการทดลองเข้าสู่ระยะ stationary phase โดยมีจำนวนเซลล์ที่คงที่เรื่อยไป จนกระทั่งเข้าสู่ระยะ lag phase ที่มีจำนวนเซลล์ลดลงในชั่วโมงที่ 78 เมื่อสิ้นสุดการทดลองจะมีจำนวนเซลล์คงเหลือเพียง $3.60 \times 10^5 \pm 2.52 \times 10^3$ เซลล์/มิลลิลิตร ส่วนทรีตเมนต์ที่ 4 มีการเจริญเติบโตของเซลล์สูงสุดในชั่วโมงที่ 54 ของการทดลอง จำนวนเซลล์เท่ากับ $1.45 \times 10^6 \pm 1.00 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร เซลล์ที่ได้จะลดลงเล็กน้อยในช่วงเวลาถัดไป และเริ่มเพิ่มขึ้นอีกครั้งในชั่วโมงที่ 72 ของการทดลอง และลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว โดยในชั่วโมงที่ 84 มีความหนาแน่นของเซลล์คงเหลือเพียง $2.50 \times 10^5 \pm 8.00 \times 10^3$ เซลล์/มิลลิลิตร (ภาพที่ 4.1 และตารางที่ 4.1)



ภาพที่ 4.1 แสดงปริมาณความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ยตลอดการทดลอง

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ย (เซลล์/มิลลิลิตร) ตลอดระยะเวลาการทดลอง

ชั่วโมงที่	ทรีตเมนต์ที่ 1 (ชุดควบคุม)	ทรีตเมนต์ที่ 2	ทรีตเมนต์ที่ 3	ทรีตเมนต์ที่ 4
0	$1.20 \times 10^5 \pm 1.00 \times 10^3$	$1.60 \times 10^5 \pm 1.00 \times 10^3$	$1.40 \times 10^5 \pm 1.00 \times 10^3$	$1.60 \times 10^5 \pm 1.00 \times 10^3$
6	$3.30 \times 10^5 \pm 2.00 \times 10^3$	$2.30 \times 10^5 \pm 2.00 \times 10^3$	$3.10 \times 10^5 \pm 2.00 \times 10^3$	$3.40 \times 10^5 \pm 2.00 \times 10^3$
12	$4.70 \times 10^5 \pm 3.00 \times 10^3$	$5.70 \times 10^5 \pm 4.00 \times 10^3$	$3.90 \times 10^5 \pm 3.00 \times 10^3$	$5.70 \times 10^5 \pm 4.00 \times 10^3$
18	$9.80 \times 10^5 \pm 7.00 \times 10^{3a}$	$9.29 \times 10^5 \pm 6.51 \times 10^3$	$9.10 \times 10^5 \pm 6.00 \times 10^3$	$7.20 \times 10^5 \pm 5.00 \times 10^3$
24	$1.23 \times 10^6 \pm 9.00 \times 10^3$	$1.52 \times 10^6 \pm 1.10 \times 10^4$	$1.34 \times 10^6 \pm 9.00 \times 10^3$	$1.01 \times 10^6 \pm 7.00 \times 10^3$
30	$1.53 \times 10^6 \pm 1.10 \times 10^4$	$1.87 \times 10^6 \pm 1.30 \times 10^4$	$1.73 \times 10^6 \pm 1.20 \times 10^4$	$1.18 \times 10^6 \pm 8.00 \times 10^3$
36	$1.86 \times 10^6 \pm 1.30 \times 10^4$	$2.03 \times 10^6 \pm 1.40 \times 10^4$	$2.04 \times 10^6 \pm 1.40 \times 10^4$	$1.36 \times 10^6 \pm 1.00 \times 10^4$
42	$2.31 \times 10^6 \pm 1.60 \times 10^4$	$2.29 \times 10^6 \pm 1.60 \times 10^4$	$1.98 \times 10^6 \pm 1.30 \times 10^4$	$1.43 \times 10^6 \pm 1.00 \times 10^4$
48	$2.63 \times 10^6 \pm 1.80 \times 10^4$	$2.65 \times 10^6 \pm 1.850 \times 10^4$	$1.62 \times 10^6 \pm 1.10 \times 10^4$	$1.37 \times 10^6 \pm 1.00 \times 10^4$
54	$2.91 \times 10^6 \pm 2.00 \times 10^4$	$3.13 \times 10^6 \pm 2.20 \times 10^4$	$1.62 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^4$	$1.45 \times 10^6 \pm 1.00 \times 10^4$
60	$3.13 \times 10^6 \pm 2.20 \times 10^4$	$3.23 \times 10^6 \pm 2.30 \times 10^4$	$1.68 \times 10^6 \pm 1.20 \times 10^4$	$1.13 \times 10^6 \pm 8.00 \times 10^3$
66	$3.22 \times 10^6 \pm 2.20 \times 10^4$	$3.49 \times 10^6 \pm 2.40 \times 10^4$	$1.61 \times 10^6 \pm 1.10 \times 10^4$	$1.07 \times 10^6 \pm 8.00 \times 10^3$
72	$3.30 \times 10^6 \pm 2.30 \times 10^4$	$3.40 \times 10^6 \pm 2.40 \times 10^4$	$1.51 \times 10^6 \pm 1.05 \times 10^4$	$1.20 \times 10^6 \pm 8.00 \times 10^3$
78	$2.31 \times 10^6 \pm 1.60 \times 10^4$	$3.13 \times 10^6 \pm 2.20 \times 10^4$	$9.30 \times 10^5 \pm 6.00 \times 10^3$	$8.70 \times 10^5 \pm 6.00 \times 10^4$
84	$1.69 \times 10^6 \pm 1.20 \times 10^4$	$2.40 \times 10^6 \pm 1.70 \times 10^4$	$3.60 \times 10^5 \pm 2.52 \times 10^3$	$2.50 \times 10^5 \pm 8.00 \times 10^3$

1.2 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

การวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแพลงก์ตอนพืช คำนวณจากสมการเส้นตรงที่มีความชันของเส้นตรง (slope) (วิเชียร กิจปรีชาวนิช, 2539) ดังนั้นเมื่อพล็อตกราฟระหว่างเวลากับค่า ln ของมวลชีวภาพ โดยให้แกน X เป็นเวลา แกน Y เป็น ln ของมวลชีวภาพ ซึ่งจะได้เส้นตรงช่วงที่เซลล์มีการเจริญเติบโตในช่วง Lag phase ซึ่งจะหาค่าความชันของเส้นตรงในช่วง Lag phase ก็จะได้ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate, μ) สูตรคำนวณนี้

$$\mu = \frac{\ln (X_t) - \ln (X_0)}{t - t_0}$$

โดยที่ μ = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

X_t = มวลชีวภาพเมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา t ชั่วโมง

X_0 = มวลชีวภาพเมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา t_0 ชั่วโมง

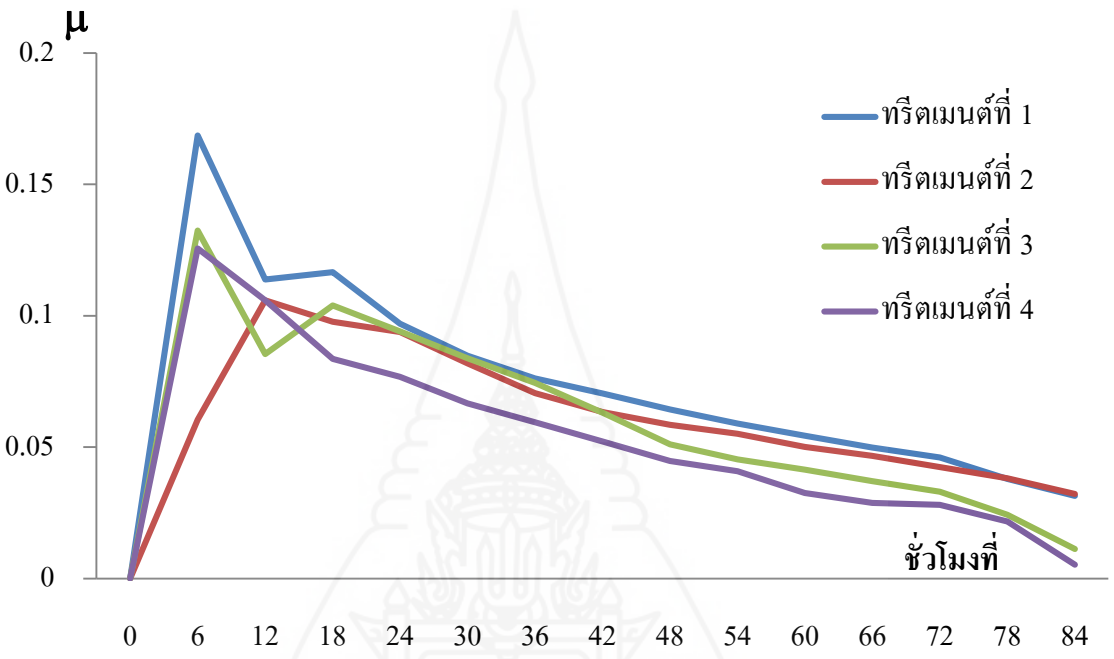
t = เวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์ในช่วง X_t

t_0 = เวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์ในช่วง X_0 โดยที่เวลา t, t_0 จะเป็นช่วงเวลาที่เซลล์เจริญอยู่ในช่วง Lag phase

จากการวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่า แต่ละทรีตเมนต์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละช่วงเวลา ($p<0.05$) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่พบในแต่ละทรีตเมนต์แสดงสถานะของช่วงการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชได้อย่างชัดเจน ซึ่งค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะนี้มีค่ามากในช่วงต้นของการทดลองและค่อยๆ ลดลง จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองในชั่วโมงที่ 18

ทรีตเมนต์ที่ 1 มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดในชั่วโมงที่ 6 ของการทดลอง มีค่ามากถึง 0.17 และเริ่มลดลงในชั่วโมงที่ 18 ของการทดลอง และเริ่มลดลงเรื่อยๆ จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง ทรีตเมนท์ที่ 2 ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเพิ่มขึ้นอย่างมากในชั่วโมงที่ 12 มีค่าเท่ากับ 0.11 และเริ่มลดลงในชั่วโมงที่ 18 ของการทดลอง ทรีตเมนท์ที่ 3 และ 4 มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่คล้ายกัน โดยทรีตเมนท์ที่ 3 ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเพิ่มขึ้นอย่างมากในชั่วโมงที่ 6 ของการทดลอง มีค่าเท่ากับ 0.13 และ มีค่าค่อนข้างคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 ไปจนถึงชั่วโมงที่ 24 ของการทดลอง ทรีตเมนต์ที่ 4 มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเพิ่มสูงในชั่วโมงที่ 6 มีค่าเท่ากับ 0.13 และเริ่มลดลงตามลำดับตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 ของการทดลอง (ภาพที่ 4.2 และตารางที่ 4.2) อย่างไรก็ตาม

จากการวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปสามารถทำได้ยาก เนื่องจากค่าที่ได้เป็นค่าที่มีค่าน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับการเพิ่มจำนวนตามรายชั่วโมง



ภาพที่ 4.2 ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแพลงก์ตอนพืชในแต่ละช่วงของการทดลอง

ตารางที่ 4.2 ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแพลงก์ตอนพืชเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาของการทดลอง

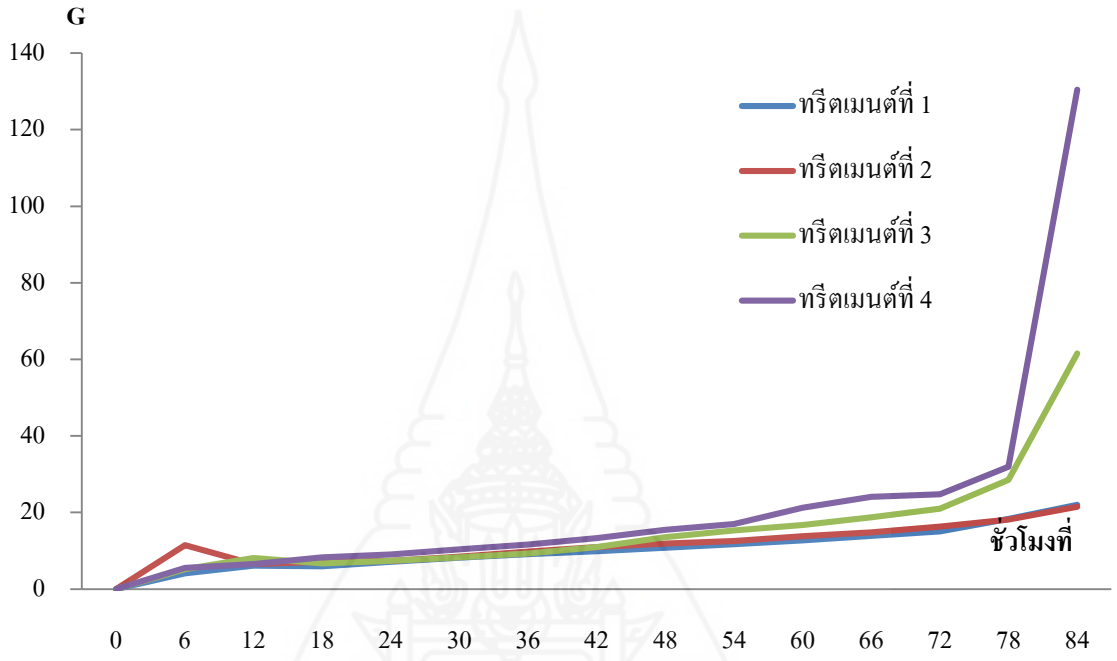
เวลา	ทรีตเมนต์ที่ 1	ทรีตเมนต์ที่ 2	ทรีตเมนต์ที่ 3	ทรีตเมนต์ที่ 4
0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
6	0.17 ± 0.00	0.06 ± 0.00	0.13 ± 0.00	0.13 ± 0.00
12	0.11 ± 0.00	0.11 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.11 ± 0.00
18	0.12 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.08 ± 0.00
24	0.10 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.08 ± 0.00
30	0.08 ± 0.00	0.08 ± 0.00	0.08 ± 0.00	0.07 ± 0.00
36	0.08 ± 0.00	0.07 ± 0.00	0.07 ± 0.00	0.06 ± 0.00
42	0.07 ± 0.00	0.06 ± 0.00	0.06 ± 0.00	0.05 ± 0.00
48	0.06 ± 0.00	0.06 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.04 ± 0.00
54	0.06 ± 0.00	0.06 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.04 ± 0.00
60	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.03 ± 0.00
66	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.03 ± 0.00
72	0.05 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00
78	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
84	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00

ระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์จะคำนวณจากวิธีการของวิเชียร กิจปรีชาวนิช (2539) ด้วยสมการ

$$\text{Genneration time, } G = \frac{\ln 2}{\mu}$$

จากการศึกษาพบว่าระยะเวลาในการแบ่งเซลล์ของแพลงก์ตอนพืชในแต่ละช่วงเวลาการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ทรีตเมนต์ที่ 1 มีระยะเวลาในการแบ่งเซลล์เป็น 2 เท่าที่สั้นกว่าทรีตเมนต์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีระยะเวลาในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่าสั้นกว่าทรีตเมนต์อื่นๆ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 – 72 ของการทดลอง ทรีตเมนต์ที่ 2 เป็นกลุ่มที่มีระยะเวลาในการแบ่งเซลล์เป็น 2 เท่า สั้นกว่าเป็นอันดับสอง โดยในช่วงแรกจะมีระยะ

การแบ่งเซลล์เป็น 2 เท่า ที่ช้ากว่าทรีตเมนต์ที่ 1 และ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเริ่มแบ่งตัวเร็วขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 42 ของการทดลอง ในทรีตเมนต์ที่ 4 มีค่าการแบ่งเซลล์เป็น 2 เท่าที่สูงกว่าทรีตเมนต์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตลอดการทดลอง (ภาพที่ 4.3 และตารางที่ 4.3)



ภาพที่ 4.3 ระยะเวลาในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่าของแพลงก์ตอนพืชในแต่ละช่วงการทดลอง

ตารางที่ 4.3 ระยะเวลาในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่าของแพลงก์ตอนพืชเฉลี่ยในแต่ละชั่วโมง

ชั่วโมงที่	ทรีตเมนต์ที่ 1	ทรีตเมนต์ที่2	ทรีตเมนต์ที่3	ทรีตเมนต์ที่ 4
0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
6	4.10 ± 0.02^{a}	11.46 ± 0.12^{d}	5.22 ± 0.02^{b}	5.52 ± 0.00^{c}
12	6.09 ± 0.01^{a}	6.55 ± 0.01^{b}	8.11 ± 0.02^{c}	6.55 ± 0.00^{b}
18	5.94 ± 0.01^{a}	7.09 ± 0.01^{c}	6.66 ± 0.01^{b}	8.30 ± 0.00^{d}
24	7.15 ± 0.00^{a}	7.39 ± 0.01^{c}	7.35 ± 0.01^{b}	9.03 ± 0.00^{d}
30	8.17 ± 0.00^{a}	8.46 ± 0.01^{c}	8.26 ± 0.01^{b}	10.41 ± 0.00^{d}
36	9.10 ± 0.01^{a}	9.82 ± 0.01^{c}	9.31 ± 0.01^{b}	11.66 ± 0.00^{d}
42	9.84 ± 0.01^{a}	10.94 ± 0.01^{b}	10.98 ± 0.01^{c}	13.29 ± 0.00^{d}
48	10.78 ± 0.01^{a}	11.85 ± 0.01^{b}	13.58 ± 0.01^{c}	15.49 ± 0.00^{d}
54	11.74 ± 0.01^{a}	12.59 ± 0.01^{b}	15.27 ± 0.01^{c}	16.98 ± 0.00^{d}
60	12.75 ± 0.01^{a}	13.84 ± 0.01^{b}	16.72 ± 0.01^{c}	21.28 ± 0.00^{d}
66	13.91 ± 0.01^{a}	14.84 ± 0.01^{b}	18.71 ± 0.01^{c}	24.07 ± 0.00^{d}
72	15.06 ± 0.01^{a}	16.33 ± 0.01^{b}	20.96 ± 0.02^{c}	24.77 ± 0.00^{d}
78	18.28 ± 0.01^{b}	18.19 ± 0.01^{a}	28.52 ± 0.04^{c}	31.93 ± 0.00^{d}
84	22.01 ± 0.01^{b}	21.50 ± 0.02^{a}	61.55 ± 0.11^{c}	130.46 ± 0.00^{d}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a และ b) ในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

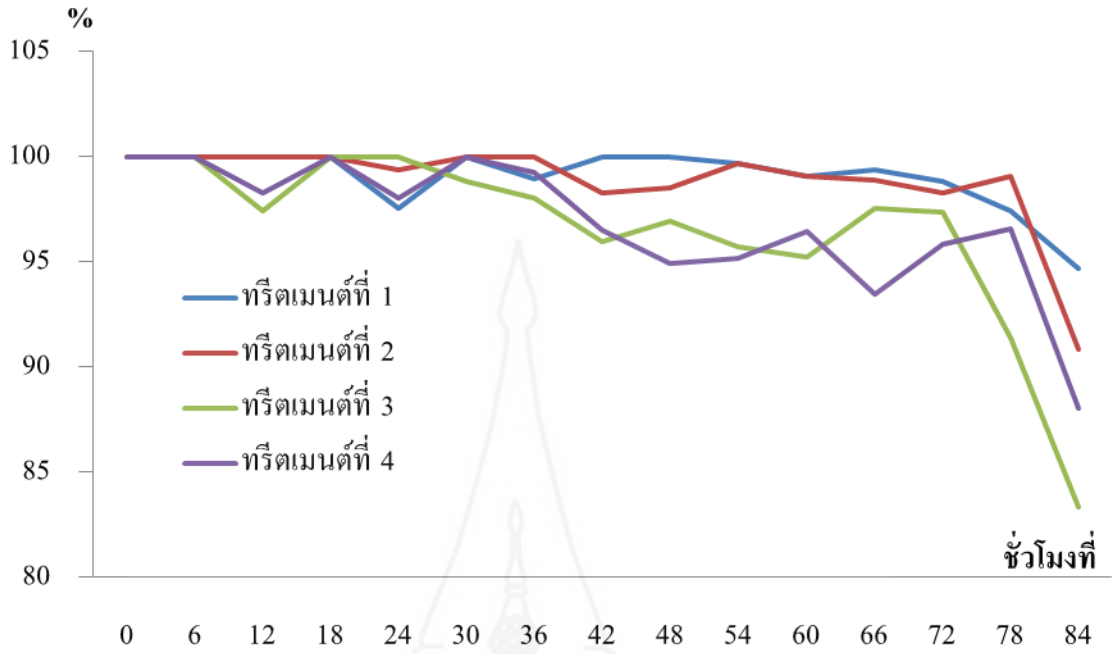
ตอนที่ 2 ความสมบูรณ์เซลล์ของแพลงก์ตอนพืช

ด้านคุณภาพเซลล์พบว่า การให้แสงไฟและอากาศที่มีช่วงเวลาและจำนวนชั่วโมงที่แตกต่างกัน ไม่ส่งผลต่อความสมบูรณ์เซลล์มากนัก ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 – 84 ของการเพาะเลี้ยง ทุกทรีตเมนต์ที่พบความสมบูรณ์ในช่วง 95 – 100 % และเริ่มพบความสมบูรณ์เซลล์มีแนวโน้มลดลง เมื่อเซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะตาย ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 78 ไปจนสิ้นสุดการทดลอง โดยทรีตเมนต์ที่ 3 และ 4 มีความสมบูรณ์เซลล์ที่ต่ำกว่าทรีตเมนต์ที่ 1 (ชุดควบคุม) และทรีตเมนต์ที่ 2 (ตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 แสดงเปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์เซลล์เฉลี่ยในแต่ละทรีตเมนต์

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความสมบูรณ์เซลล์ (เปอร์เซ็นต์)			
	ทรีตเมนต์ที่ 1	ทรีตเมนต์ที่ 2	ทรีตเมนต์ที่ 3	ทรีตเมนต์ที่ 4
0	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
6	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
12	100.00 ± 0.00^{a}	100.00 ± 0.00^{a}	97.44 ± 0.50^{c}	98.25 ± 0.76^{b}
18	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
24	97.56 ± 0.24^{c}	99.34 ± 0.66^{b}	100.00 ± 0.00^{a}	98.02 ± 0.12^{c}
30	100.00 ± 0.00^{a}	100.00 ± 0.00^{a}	98.84 ± 1.10^{b}	100.00 ± 0.00^{a}
36	98.92 ± 0.53^{ab}	100.00 ± 0.00^{a}	98.04 ± 1.02^{b}	99.26 ± 0.33^{a}
42	100.00 ± 0.00	98.25 ± 0.75	95.96 ± 3.25	96.50 ± 2.45
48	100.00 ± 0.00^{a}	98.49 ± 0.41^{a}	96.91 ± 2.35^{ab}	94.89 ± 2.66^{b}
54	99.66 ± 0.77^{a}	99.68 ± 0.20^{a}	95.68 ± 2.42^{b}	95.17 ± 1.30^{b}
60	99.04 ± 0.02^{a}	99.07 ± 0.04^{a}	95.24 ± 2.40^{b}	96.46 ± 2.02^{ab}
66	99.38 ± 0.08^{a}	98.85 ± 0.60^{ab}	97.52 ± 0.23^{b}	93.46 ± 1.33^{c}
72	98.79 ± 1.02	98.24 ± 0.80	97.35 ± 1.25	95.83 ± 3.20
78	97.40 ± 0.00^{a}	99.04 ± 0.50^{a}	91.40 ± 4.35^{b}	96.55 ± 1.45^{a}
84	94.67 ± 0.00^{a}	90.83 ± 2.40^{ab}	83.33 ± 6.45^{b}	88.00 ± 6.17^{ab}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a และ b) ในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 4.4 ความสมบูรณ์ของเซลล์แพลงก์ตอนพืชในแต่ละช่วงเวลาของการทดลอง

ตารางที่ 4.5 แสดงคุณภาพน้ำเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลอง

ทรีตเมนต์	ค่าคุณภาพน้ำ				
	อุณหภูมิ (^{o}C)	ความเค็ม (ppt)	ความเป็นกรด-ด่าง	ความเป็นด่างทั้งหมด (mg/L.$CaCO_3$)	แอมโนเนีย (ppm)
ทรีตเมนต์ที่ 1	25.10±0.32^{a}	25.20±1.48^{a}	8.09±0.12^{a}	128.01±2.63^{a}	0.41±0.14^{a}
ทรีตเมนต์ที่ 2	25.01±0.40^{a}	25.30±1.49^{a}	8.05±0.10^{a}	126.22±4.44^{a}	0.35±0.06^{a}
ทรีตเมนต์ที่ 3	25.55±0.10^{a}	25.90±1.52^{a}	7.99±0.15^{a}	127.33±3.67^{a}	0.38±0.12^{a}
ทรีตเมนต์ที่ 4	25.00±0.47^{a}	25.90±1.37^{a}	8.05±0.10^{a}	126.10±4.95^{a}	0.45±0.07^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a และ b) ในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของคุณภาพน้ำพบว่า ค่าพารามิเตอร์แต่ละค่าที่ได้จากการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อทำการวิเคราะห์ผลด้วยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผลการเจริญของเซลล์จากการทดลองเป็นผลจากช่วงของการให้แสง และการเติมอากาศลงในหน่วยทดลอง โดยผลที่ได้จะสามารถยืนยันได้ถึงอิทธิพลจากช่วงแสงและอิทธิพลของการเติมอากาศจะส่งผลต่อการเจริญของเซลล์แพลงก์ตอนพืช

ตอนที่ 3 ต้นทุนค่าไฟฟ้าในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช

จากการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชกำลังการผลิต 100 ลิตร/วัน พบว่า ทรีตเมนต์ที่ 1 (ชุดควบคุม) มีต้นทุนทั้งหมด 28,550 บาท/เดือน ทรีตเมนต์ที่ 2 มีต้นทุนทั้งหมด 23,900 บาท/เดือน ทรีตเมนต์ที่ 3 มีต้นทุนทั้งหมด 22,350 บาท/เดือน และทรีตเมนต์ที่ 4 มีต้นทุนทั้งหมด 21,575 บาท/เดือน เมื่อคิดเป็นต้นทุนค่าไฟฟ้าในการเพาะเลี้ยงต่อลิตร เท่ากับ 9.21, 7.71, 7.21 และ 6.96 บาท ตามลำดับ ซึ่งต้นทุนค่าไฟฟ้าในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชลดลงจากการผลิตแบบเปิดแสงไฟและเติมอากาศต่อเนื่อง 24 ชั่วโมงต่อวัน 16.29%, 21.72% และ 24.43% ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.6 แสดงต้นทุนค่าไฟฟ้าสำหรับกำลังการผลิตแพลงก์ตอนพืช/100 ลิตร/ วัน

ต้นทุนแต่ละทรีตเมนต์	ต้นทุนค่าไฟฟ้าสำหรับกำลังการผลิตแพลงก์ตอนพืช			
	ทรีตเมนต์ที่ 1	ทรีตเมนต์ที่ 2	ทรีตเมนต์ที่ 3	ทรีตเมนต์ที่ 4
1. ต้นทุนค่าไฟฟ้าคิดตามชั่วโมงทดลอง คิดที่ 12.50 บ/ชม.	9,300.00	4,650.00	3,100.00	2,325.00
2. ต้นทุนค่าไฟฟ้าเฉลี่ย (บาท/วัน)	920.97	770.97	720.97	695.97
3. ต้นทุนไฟฟ้าเฉลี่ย/ลิตร (บาท/วัน)	9.21	7.71	7.21	6.96
ลดต้นทุนค่าไฟฟ้า (%)		16.29	21.72	24.43

หมายเหตุ จำนวนไฟฟ้าที่ใช้ 4 ยูนิต/ชั่วโมง, ค่าไฟฟ้ายูนิตละ 3.125 บาท

บทที่ 5
สรุปการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

จากการวิจัยเรื่องผลของการให้แสงไฟและการเติมอากาศต่อการเจริญเติบโตและความสมบูรณ์เซลล์ของแพลงก์ตอนพืช สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ ดังนี้

1. สรุปการวิจัยและอภิปรายผล

1.1 การเจริญเติบโตและความสมบูรณ์เซลล์ของแพลงก์ตอนพืช

จากผลการศึกษาการให้แสงไฟและการเติมอากาศต่อการเจริญเติบโตและความสมบูรณ์เซลล์ของคีโตเซอรอส พบว่า การเปิดแสงไฟและเติมอากาศ 2 ชั่วโมงติดต่อกัน สลับกับปิดแสงไฟและไม่เติมอากาศ 2 ชั่วโมงติดต่อกัน จนได้รับแสงไฟและเติมอากาศครบ 12 ชั่วโมงต่อวันจะให้ผลผลิตที่สูงกว่าการทดลองให้แสงไฟและเติมอากาศโดยวิธีการอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการให้แสงไฟและเติมอากาศต่อเนื่องที่ 24 ชั่วโมงต่อวัน จะให้ปริมาณผลผลิตที่ต่ำกว่า ซึ่งการให้แสงที่มากกว่าจะมีผลทำให้ต้นทุนในการผลิตสูงขึ้น เนื่องจากต้นทุนค่าไฟฟ้าจะเป็นต้นทุนที่สำคัญในการผลิตคีโตเซอรอสเพื่อการอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อน ทั้งนี้ นอกจากจำนวนชั่วโมงแล้วความเข้มของแสงก็จะมีผลที่สำคัญต่อการเจริญของแพลงก์ตอนอีกด้วย จากการศึกษาของ Sumilesh และคณะ (2013) พบว่าความเข้มของแสงในช่วง 10,000 Lux จะให้ผลการผลิตของ *Chaetocerros muelleri* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งในช่วงของการให้แสงนี้ขึ้นอยู่กับความลึกของระดับน้ำ และความโปร่งแสงของน้ำที่ใช้เลี้ยงอีกด้วย

ขณะที่ลดการให้แสงไฟและเติมอากาศ ระดับการผลิตออกซิเจนที่มีลักษณะเป็นฟองก๊าซมีส่วนช่วยให้เซลล์แพลงก์ตอนพืชสามารถลอยตัวขึ้นสู่ผิวน้ำได้ โดยเมื่อขาดแสงไฟกลไกในการผลิตออกซิเจนก็ทำไม่ได้ จึงทำให้เซลล์ของคีโตเซอรอสตกตะกอนลง ประกอบกับในน้ำที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบหลัก การลดปริมาณช่วงการให้แสงไฟและเติมอากาศลงจะส่งผลให้แพลงก์ตอนขาดคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในกระบวนการผลิตอาหารของพืช ซึ่งทำให้คีโตเซอรอสซึ่งจัดเป็นพืชชนิดหนึ่งไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ในสภาวะวิกฤติดังกล่าวได้และตายลงในที่สุด ซึ่งจะเห็นได้จากการศึกษาของ คมเพชร ไทยเฉลิมชาติ (2545) และ Falkowski P.G. (1984) พบว่าการให้แสงช่วงเปิด-ปิด 24 : 0 ชั่วโมง เป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ

C. Calcitrans แต่ในช่วงระยะเวลาการให้แสงที่ 24 : 0 ชั่วโมง และ 12 : 12 ชั่วโมง มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะไม่แตกต่างกัน ดังนั้น จึงไม่จำเป็นต้องเปิดแสงตลอด 24 ชั่วโมง เพื่อลดต้นทุนการเพาะเลี้ยงในด้านพลังงาน สามารถให้แสงไฟและเติมอากาศเพียง 12 ชั่วโมง ก็เพียงพอต่อความต้องการใช้แสงในการเจริญเติบโตของ *C. Calcitrans* ซึ่งจากการทดลองจะเห็นได้ว่าหากให้แสงไฟและเติมอากาศในปริมาณที่น้อยเกินไปก็จะส่งผลทำให้การเจริญของคีโตเซอรอสทำได้ไม่ดีนัก ซึ่งค่าดังกล่าวจะเห็นได้จากทั้งปริมาณเซลล์ที่น้อยกว่า และความรวดเร็วในการเข้าสู่ระยะ lag phase ของแพลงก์ตอน

1.2 ความสมบูรณ์เซลล์ของแพลงก์ตอนพืช

จากการทดลองพบว่าความสมบูรณ์เซลล์ของแพลงก์ตอนที่ทำการทดลองให้อากาศและช่วงแสงที่แตกต่างกันไม่ส่งผลให้เกิดความผิดปกติของเซลล์ในการทดลอง โดยความสมบูรณ์ของเซลล์แพลงก์ตอนพืชจะเริ่มลดลงเมื่อเซลล์เข้าสู่ระยหยุดการเจริญเติบโต ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 78 ของการทดลอง ซึ่งความแตกต่างที่พบเป็นความแตกต่างที่ไม่มีผลทางสถิติจากการทดลองในแต่ละทรีตเมนต์

1.3 ต้นทุนค่าไฟฟ้าในการเพาะเลี้ยง

จากผลการศึกษาการให้แสงไฟและการเติมอากาศต่อการเจริญเติบโตและความสมบูรณ์เซลล์ของคีโตเซอรอส พบว่า ทรีตเมนต์ที่ 1 (ชุดควบคุม) ทรีตเมนต์ที่ 2, 3 และ 4 มีต้นทุนค่าไฟฟ้าต่อลิตร เฉลี่ยลิตรละ 9.21, 7.71, 7.21 และ 6.96 บาท ตามลำดับ ซึ่งต้นทุนค่าไฟฟ้าลดลงจากการผลิตแบบเติมแสงไฟและให้อากาศ 24 ชั่วโมง ประมาณ 16.29%, 21.72% และ 24.43% ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของวุฒิชัย อ่อนเอี่ยม และ วิสุทธิ์ พรมเอี่ยม (2552) พบว่า ชุดการทดลองที่เปิดลมจำนวน 24 ชั่วโมง 12 ชั่วโมง และ 8 ชั่วโมงต่อวัน ในด้านต้นทุนการผลิต ชุดที่เปิดลมจำนวน 12, 8 และ 6 ชั่วโมงต่อวัน สามารถลดต้นทุนการผลิตลงได้ถึง 10.94%, 19.49% และ 23.07% ตามลำดับ

การเพาะเลี้ยงคีโตเซอรอสนั้นส่วนใหญ่มุ่งเน้นปริมาณเซลล์สูงสุดที่ผลิตได้ หากแต่ว่าเซลล์ที่มีคุณภาพ คือเซลล์ที่มีความสมบูรณ์เซลล์ดีและใช้ระยะเวลาในการแบ่งเป็นสองเท่าสั้นที่สุด ดังนั้นจากผลการทดลองนี้ ผู้ผลิตหัวเชื้อคีโตเซอรอสในเชิงธุรกิจ สามารถลดต้นทุนการผลิตด้วยการปรับรูปแบบการเพาะเลี้ยงที่มีการเปิดแสงไฟและเติมอากาศ 2 ชั่วโมงติดต่อกัน สลับกับปิดแสงไฟและไม่เติมอากาศ จนได้รับแสงไฟและเติมอากาศครบ 12 ชั่วโมงต่อวันโดยรูปแบบการเลี้ยงนี้จะสามารถช่วยลดต้นจากรูปแบบการเปิดแสงไฟและเติมอากาศจนครบ 24 ชั่วโมง ลงไปอีก 16.29 เปอร์เซ็นต์

2. ข้อเสนอแนะ

2.1 เสนอแนะในการนำผลงานวิจัยไปใช้

จากการทดลองครั้งนี้ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะเพิ่มเติมเพื่อให้ผู้ที่สนใจ นำไปปรับปรุงแก้ไข เพิ่มเติมดังนี้

2.1.1 ในการเลือกรูปแบบการเพาะเลี้ยงแต่ละครั้ง ควรคำนึงถึงความสมบูรณ์แข็งแรงของหัวเชื้อด้วย เนื่องจากหัวเชื้อในแต่ละแหล่ง แต่ละสายพันธุ์จะมีความแข็งแรงที่แตกต่างกัน

2.1.2 ผู้ที่ทำการเพาะเลี้ยงในเชิงธุรกิจ ควรจะต้องพัฒนาและปรับปรุงวิธีการเลี้ยงในรูปแบบอื่นๆ อย่างต่อเนื่องเพื่อให้ได้วิธีการเพาะเลี้ยงที่ให้ผลผลิตที่มีประสิทธิภาพและลดต้นทุนในการผลิตลง

2.2 ข้อแนะนำในการวิจัยครั้งต่อไป

2.2.1 ควรศึกษาในแพลงก์ชนิดอื่นเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้กว้างขึ้น

2.2.2 ควรศึกษาในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันออกไป เช่นในพื้นที่กลางแจ้งเพื่อความสะดวกต่อเกษตรกรในการนำใช้ในการอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อนในบ่อเลี้ยงและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้กว้างขึ้น

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

คมเพชร ไทยเฉลิมชาติ. (2545). *ระยะเวลาการให้แสงต่อการเติบโตของ Chaetoceros calcitrans. ปัญหาพิเศษ*. ภาควิชาวาริชศาสตร์. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยบูรพา.

จงกล พรมยะ. (2552). การเพาะเลี้ยงสาหร่าย ภาคเทคโนโลยีการประมง. คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.

ณัฐพงศ์ ต้นสาลี และจามรี รักษ์บางแหลม. (2547). ผลของความเค็มต่อการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros* sp. และ *Chlorella* sp. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสุราษฎร์ธานี สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง. กรมประมง, เอกสารวิชาการฉบับที่ 25/2547.

ไพรินทร์ พุฒตาล. (2550). การศึกษาแพลงก์ตอนในระบบนิเวศชายฝั่ง บริเวณหาดท่าบนเกาะสีชัง จ. ชลบุรี. โครงการครุวิจัย-วิทยาศาสตร์ทางทะเลกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

ทิพาพร ไตรทอง และนงลักษณ์ สำราญราษฎร์. (2550). การผลิตแพลงก์ตอนพืชปริมาณมากเพื่อใช้ในการอนุบาลลูกหอย. *วารสารวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง*. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง, 127-128.

ประยูร สุรตระกูล. (2540). การเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชทะเล *Chaetoceros calcitrans* เพื่อเป็นอาชีพเสริมเกษตรกร. *วารสารการประมง*. 50(6), 488-492.

ลัดดา วงศ์รัตน์. (2544). *แพลงก์ตอนพืช* (พิมพ์ครั้งที่ 2) กรุงเทพฯ: ภาควิชาชีววิทยาประมง. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วาสนา อากรรัตน์ และวุฒิชัย อ่อนเอี่ยม. (2555). ผลของไดอะตอม *Thalassiosira* spp ต่ออัตราการรอดตายและพัฒนาการของลูกปูม้า (*Portunus pelagicus*) วัยอ่อนระยะซูเอีย 1 ถึง 4. *วารสารแก่นเกษตร* 40(1).

วุฒิชัย อ่อนเอี่ยม และวิสุทธิ์ พรมเอี่ยม. (2552). ผลของการให้อากาศต่อการผลิตหัวเชื้อคีโตเซอรอส (*Chaetoceros* sp.) ในเชิงธุรกิจการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 สาขาประมง กรุงเทพฯ, 346-353.

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2536). *อาหารปลา*. ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา: ชลบุรี.

วิเชียร กิจปรีชาวนิช. (2539). *เอกสารคำสอนวิชาสรีรวิทยาของจุลินทรีย์*. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สรวิศ เผ่าทองศุข. (2543). *สาหร่าย ศักยภาพการวิจัยและพัฒนาการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายในประเทศไทย*. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: กรุงเทพมหานคร.

Azam, K., Pal, S.W. & Singh, N.K. (2013) Evaluation of Relationship between light Intensity (lux) and Growth of *Chaetoceros muelleri*. Oceanography. Department of Technology and Environment University of the South Pacific, Fiji.

Bold, H.C. & Wyne, MJ. (1978). *Introduction to algae.* Prentice-Hall, Englewood Cliffs, Jersey.

Creswell, L. (2010). Phytoplankton culture for aquaculture feed Southern Regional Aquaculture Center, 5004.

Falkowski, P.C., Wyman, K. & Mauzerall, D. (1984). Effects of continuous background irradianceon xenon-flash-induced fluorescence yieldsin marine phytoplankton, In Advancesin photosynthesis research. Proc. 6th Int.Photosyn. Congr. (Brussels) 1.2, 163-166.

Lavens, P., & Sorgeloos, P. (1996). Manual on the production and use of live food FAO Fisheries Technical Paper No.361. 295.

Stein, J. (1973). *Hand book of phycological method: culture methods and growth measurements*. Cambridge University Press, London. (For general algae culture)

Taguchi, S., Hirata, J.A. & Laws, E.A. (1987). Silicate deficiency and lipid synthesis ofmarine diatom. *Journal of Phycology*. 23: 260-267.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การตรวจสอบคุณภาพแพลงก์ตอนพืช

การตรวจสอบความหนาแน่นเซลล์ของแพลงก์ตอน มีอุปกรณ์และวิธีการดังนี้

1. อุปกรณ์

1.1 กล้องจุลทรรศน์

1.2 Hemacytometer

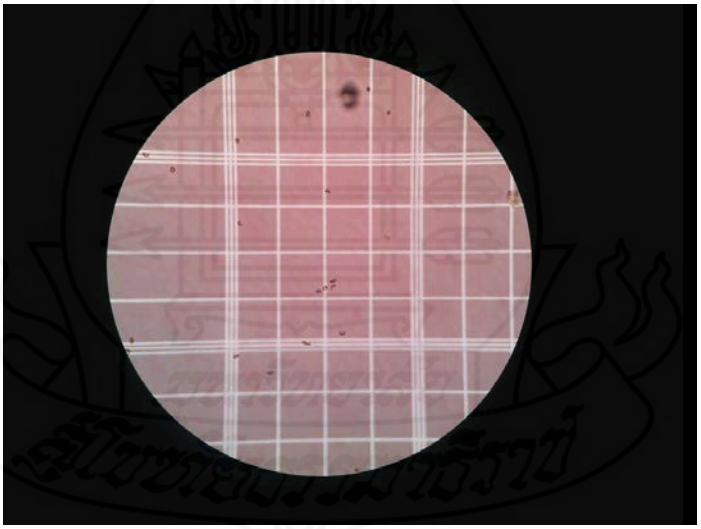
1.3 Automatic pipette

1.4 Pipette tips

Hemacytometer counting chamber

สไลด์ Hemacytometer 1 อัน จะมีตารางสี่เหลี่ยมเล็กๆ 2 ตาราง อยู่พื้นที่ตรงกลางสไลด์ โดยแต่ละตารางมีพื้นที่เท่ากับ 1 มม.^{2} จะมีความลึก 1/10 มม. บริเวณรอบตารางสี่เหลี่ยมจะล้อมรอบด้วยร่องลึกขนาดใหญ่ให้น้ำขังได้นิยมใช้สำหรับนับสาหร่ายขนาดเล็ก (0.5 – 10 ไมครอน) สไลด์นับเซลล์แบบนี้จุน้ำได้ปริมาตรที่แน่นอน สามารถใช้นับสาหร่ายที่ยังมีชีวิตและตายแล้ว

ในการนับสาหร่ายจะหยดน้ำตัวอย่างลงไป 1 หยด และนับจำนวนเซลล์สาหร่ายที่อยู่บนตารางสี่เหลี่ยมและสามารถคำนวณค่าเป็นจำนวนสาหร่ายต่อปริมาตรน้ำได้



ภาพผนวกก ก 1 แสดงผิวตารางบน Hemacytometer

2. วิธีการนับเซลล์บน Hemacytometer

2.1 หยดตัวอย่างสาหร่ายที่ต้องการนับจำนวนลงไป 1 หยด ในช่องใส่ตัวอย่างของสไลด์ ที่มีกระจกปิดสไลด์อยู่ ตัวอย่างจะกระจายทั่วตารางสี่เหลี่ยม

2.2 วางสไลด์ Hemacytometer ทิ้งไว้ 1 นาที เพื่อให้เซลล์สาหร่ายจมลงสู่พื้นสไลด์

2.3 วางสไลด์ Hemacytometer บนแท่นกล้องจุลทรรศน์ ปรับกล้องและเริ่มกำลังขยายจากต่ำไปสูง

2.4 นับเซลล์สาหร่ายบนช่องสี่เหลี่ยมตรงกลาง (25 ช่องใหญ่ ซึ่งภายในมีตารางขนาดเล็กจำนวน 16 ช่อง)

หมายเหตุ ถ้าจำนวนเซลล์หนาแน่นมาก อาจสุ่มนับ 5 ช่อง แต่ผลที่ได้ต้องคูณ 5 หรือ สุ่มนับ 10 ช่อง ผลที่ได้ต้องคูณ 2.5

2.5 ทำการนับจำนวนเซลล์สาหร่าย 2 ตาราง สมมุตินับได้ n และ m เซลล์ การรายงานคือ $(n + m)/2 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร

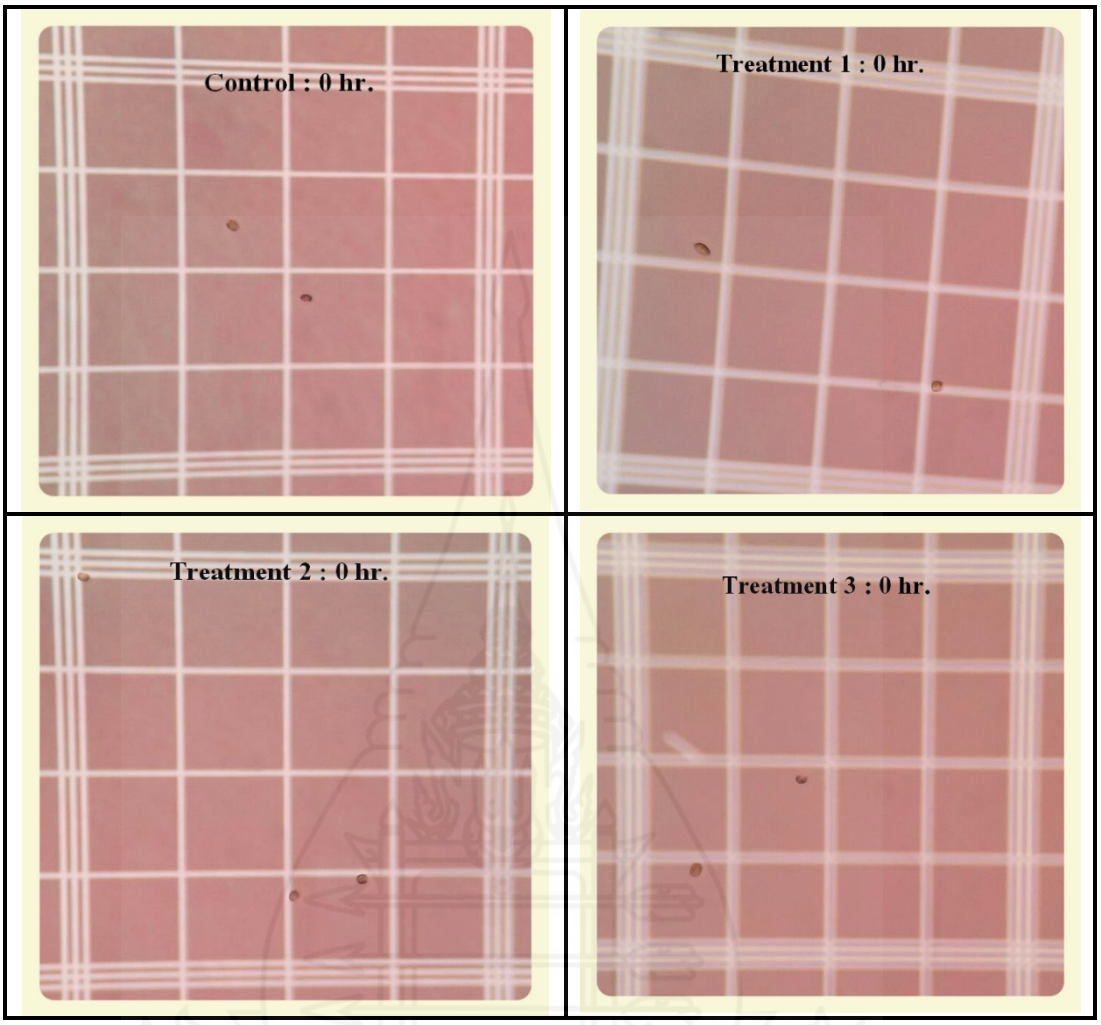
เช่น จำนวนเซลล์ของ Chaetoceros sp. จาก Hemacytometer นับทั้ง 25 ช่อง จำนวน 2 ตาราง ได้ค่าดังนี้

นับครั้งที่ 1 = 68 เซลล์

ครั้งที่ 2 = 91 เซลล์

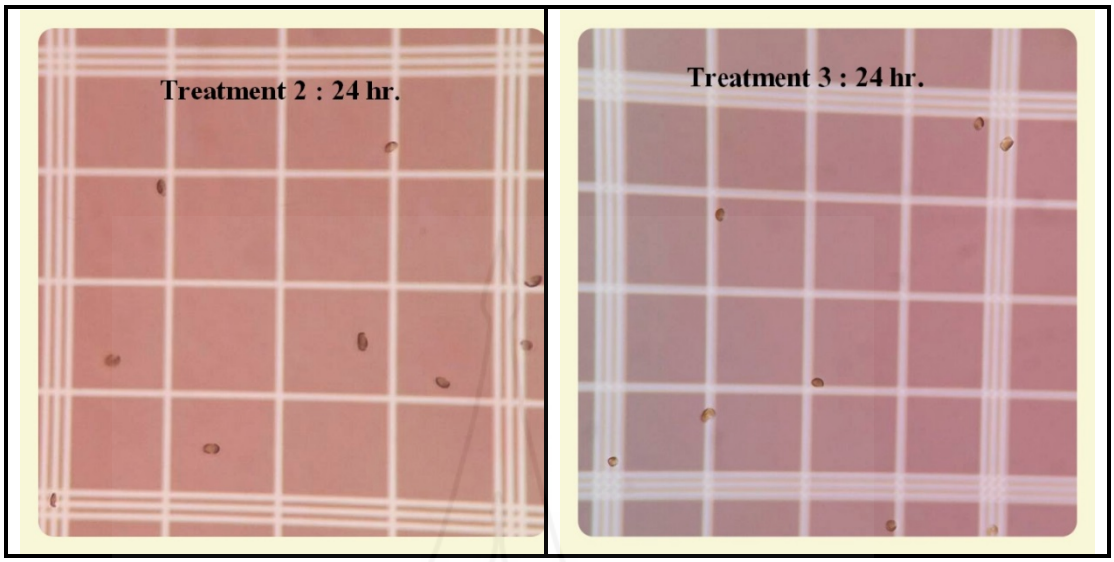
ดังนั้น จำนวนเซลล์ $= (68+91)/2 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร

$= 79.5 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร



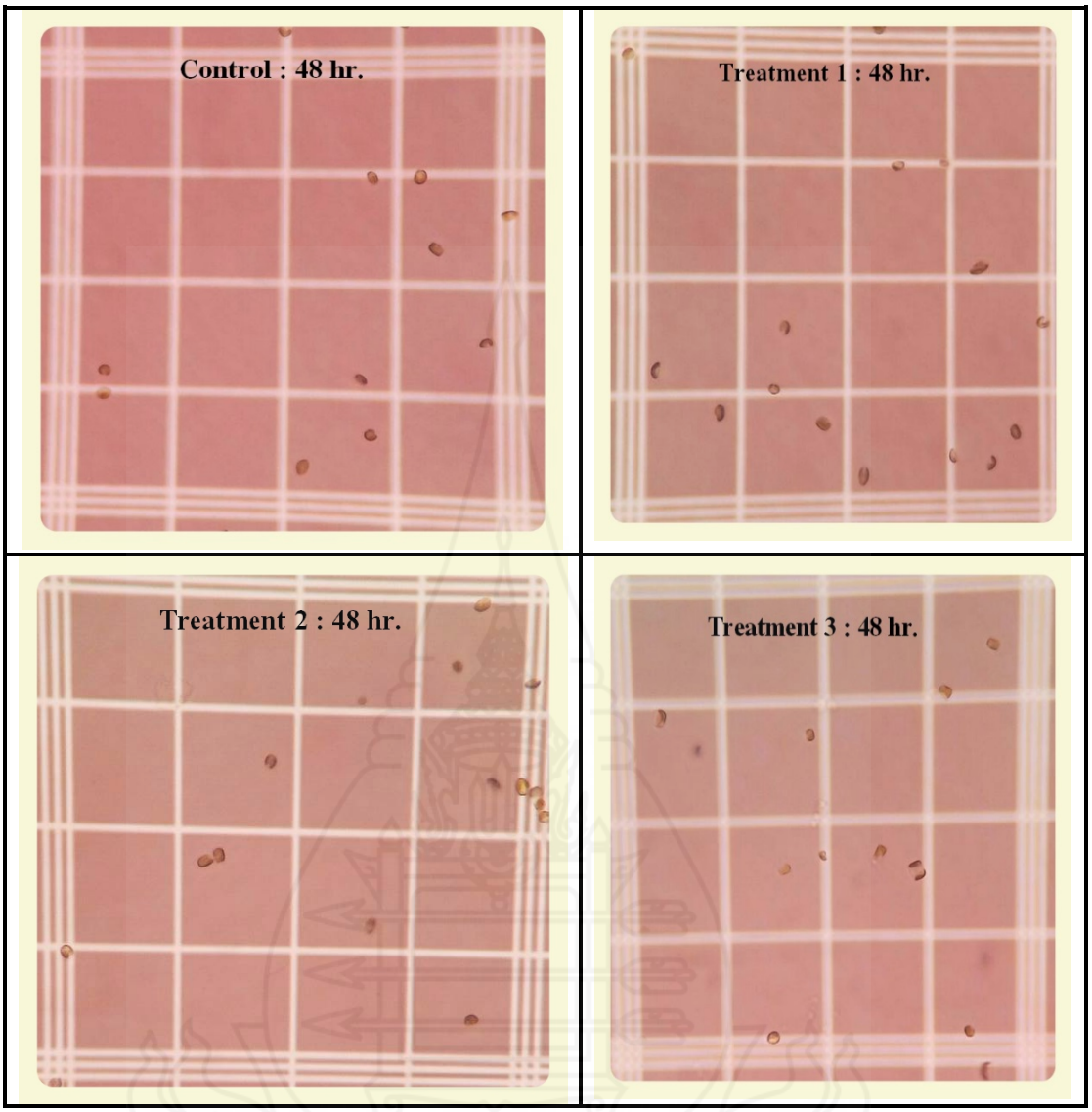
ภาพผนวก ก 2 แสดงความหนาแน่นเซลล์ ของแต่ละชุดการทดลอง
ณ ชั่วโมงเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยง

จากภาพแสดงความหนาแน่นเซลล์ ณ ชั่วโมงเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยงคีโตเซอรอส ทุกทรีตเมนต์มีความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ยอยู่ในช่วง 1.2 – 1.6 × 105 เซลล์/มล.



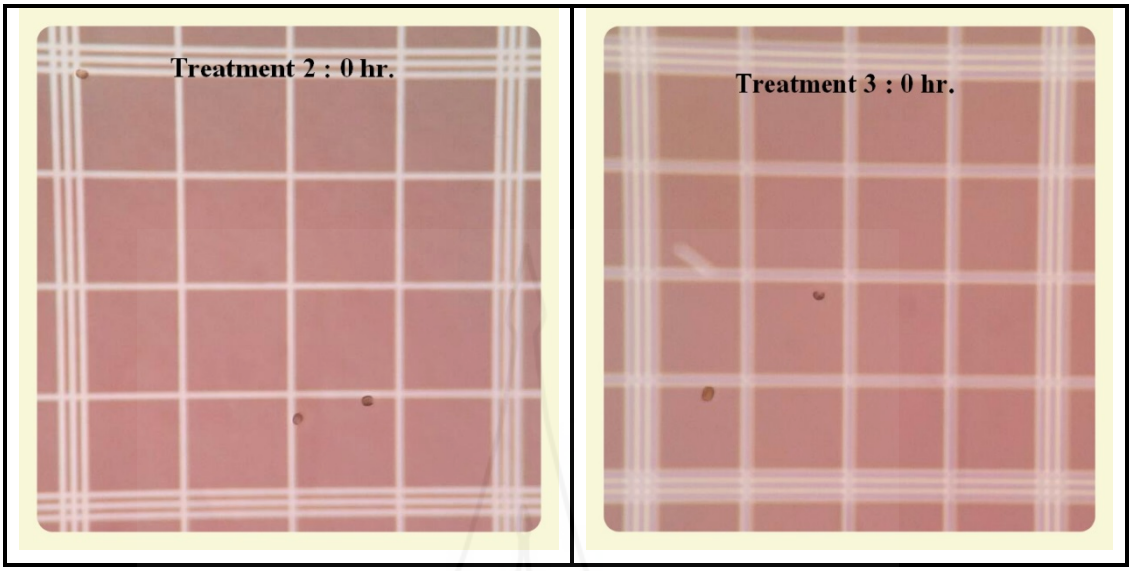
ภาพผนวก ก 3 แสดงความหนาแน่นเซลล์ ของแต่ละทรีตเมนต์ที่ ที่อายุการเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมง

จากภาพ หลังจากทำการเพาะเลี้ยงคีโตเซอรอสนาน 24 ชั่วโมง พบว่า เซลล์ในทรีตเมนต์ที่ 1 (ชุดควบคุม) ทรีตเมนต์ที่ 2 และทรีตเมนต์ที่ 3 มีความหนาแน่นเซลล์ที่ไม่แตกต่างกัน อยู่ในช่วง 1.23 -1.52 × 106 เซลล์/มล. ซึ่งทั้ง 3 ทรีตเมนต์ที่ มีค่ามากกว่าทรีตเมนต์ที่ 4 โดยมีความหนาแน่นเซลล์เท่ากับ 1.01 × 106 เซลล์/มล.



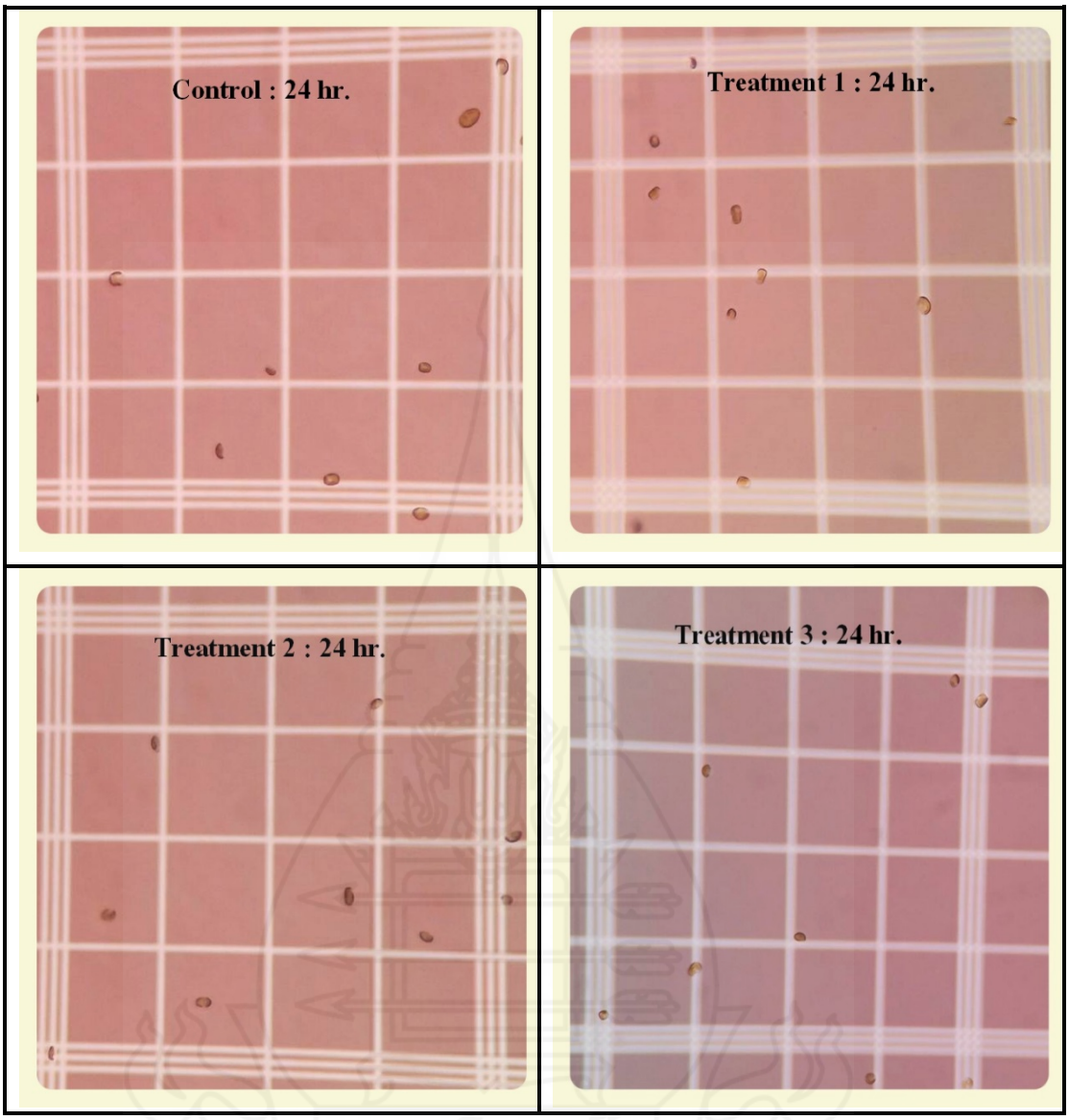
ภาพผนวก ก 4 แสดงความหนาแน่นเซลล์ ของแต่ละทรีตเมนต์ที่ ที่อายุการเพาะเลี้ยง 48 ชั่วโมง

จากภาพพบว่า เซลล์คีโตเซอรอสในแต่ละทรีตเมนต์ที่ มีความหนาแน่นเซลล์ที่เพิ่มมากขึ้น แต่พบว่า เซลล์ในทรีตเมนต์ที่ 3 และ 4 จับตัวรวมกลุ่มเป็นก้อน เนื่องจากการลดชั่วโมงการให้อากาศเข้าไปภายในภาชนะ ส่งผลให้การหมุนเวียนของน้ำเลี้ยงไม่ดีพอ เซลล์จึงเกิดการจับรวมกันเป็นกลุ่มเซลล์



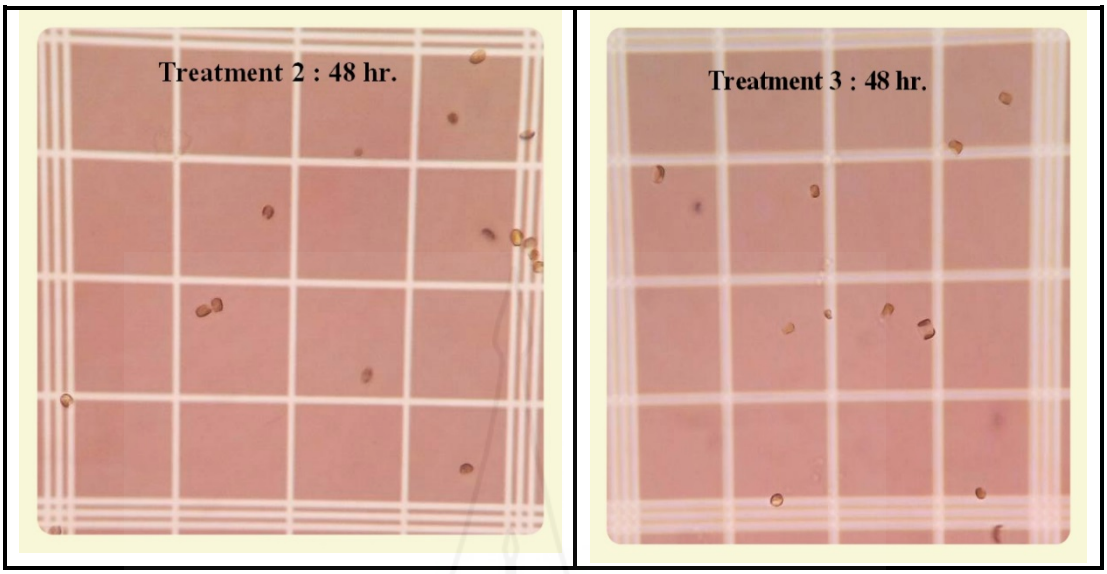
ภาพผนวก ก 5 แสดงความสมบูรณ์เซลล์ ของแต่ละทรีตเมนต์ ณ ชั่วโมงเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยง

จากภาพ ณ ชั่วโมงเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยง คีโตเซอรอส ทุกทรีตเมนต์ที่มีความสมบูรณ์เซลล์ 100 เปอร์เซ็นต์



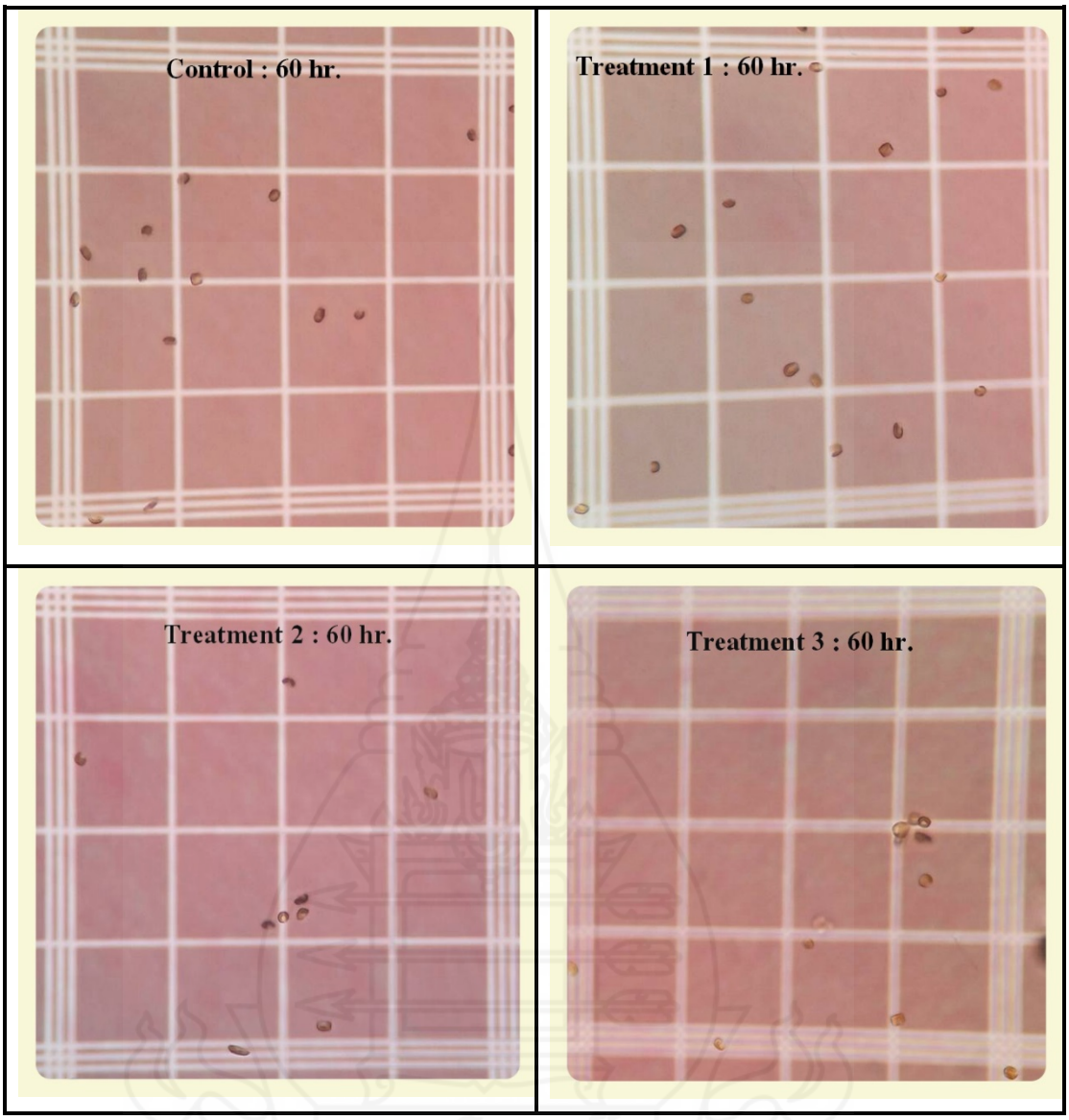
ภาพผนวก ก 6 แสดงความสมบูรณ์เซลล์ ของแต่ละทรีตเมนต์ที่ อายุการเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมง

จากภาพความสมบูรณ์เซลล์ทั้ง 4 ทรีตเมนต์ ยังไม่มีความแตกต่างกันมีค่าตั้งแต่ 97-100 เปอร์เซ็นต์



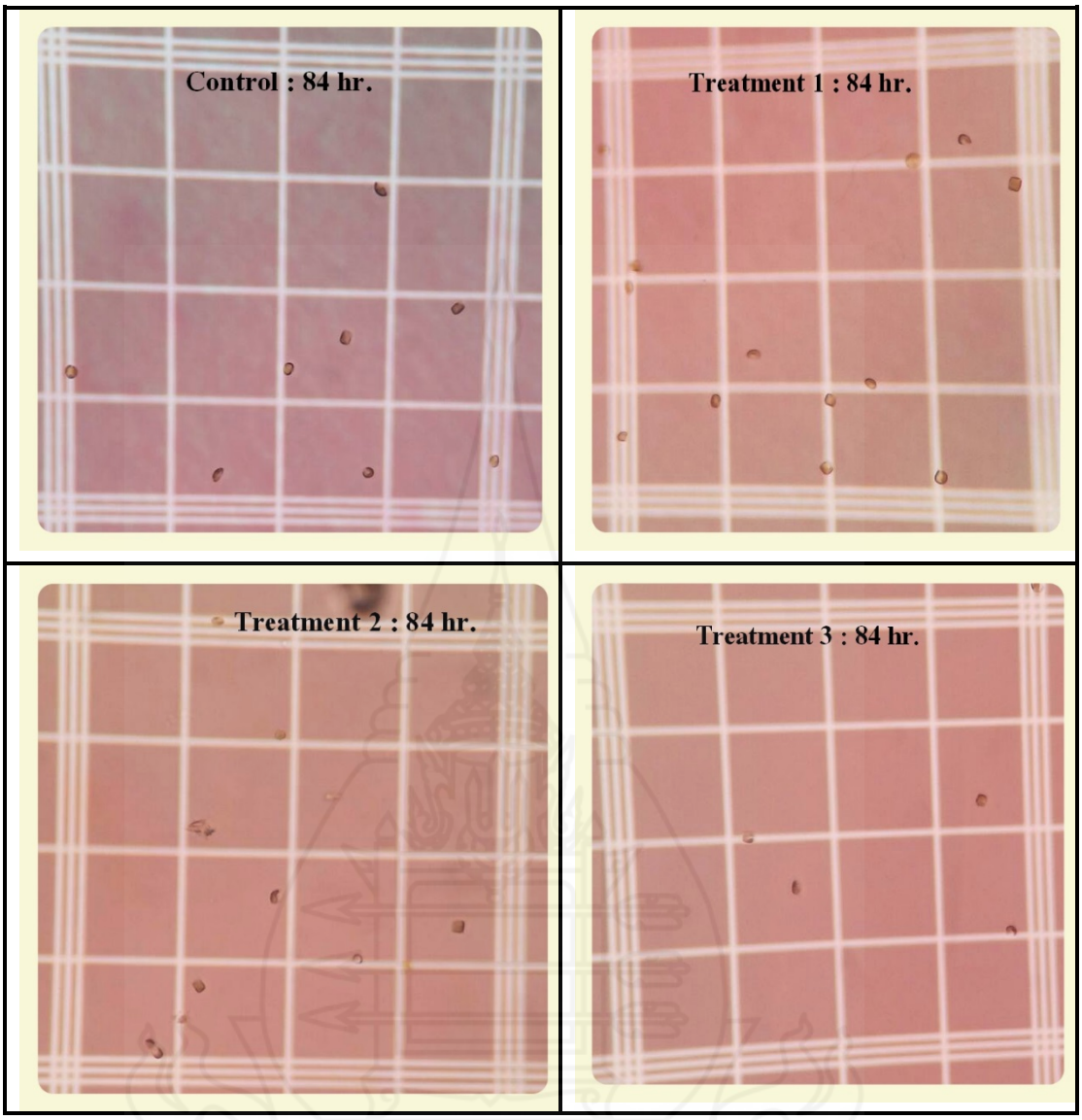
ภาพผนวก ก 7 แสดงความสมบูรณ์เซลล์ ของแต่ละทรีตเมนต์ที่อายุการเพาะเลี้ยง 48 ชั่วโมง

จากภาพ พบว่าเซลล์คีโตเซอรอสในแต่ละทรีตเมนต์ที่ มีความหนาแน่นเซลล์ที่เพิ่มมากขึ้น แต่พบว่า เซลล์ในทรีตเมนต์ที่ 3 และ 4 จับตัวรวมกลุ่มเป็นก้อน เนื่องจากการลดชั่วโมงการให้อากาศเข้าไปภายในภาชนะ ส่งผลให้การหมุนเวียนของน้ำเลี้ยงไม่ดีพอ เซลล์จึงเกิดการจับรวมกันเป็นกลุ่มเซลล์ และยังพบความสมบูรณ์เซลล์ที่ลดลงอีกด้วย



ภาพผนวก ก 8 แสดงความสมบูรณ์เซลล์ ของแต่ละทรีตเมนต์ที่ อายุการเพาะเลี้ยง 60 ชั่วโมง

จากภาพ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงคีโตเซอรอสที่อายุ 60 ชั่วโมง พบว่า ทรีตเมนต์ที่ 1 (ชุดควบคุม) และทรีตเมนต์ที่ 2 เซลล์มีความสมบูรณ์เซลล์ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่พบว่าในทรีตเมนต์ที่ 3 และ 4 เซลล์มีเปอร์เซ็นต์ของความสมบูรณ์เซลล์ที่ลดต่ำลงอย่างชัดเจน



ภาพผนวก ก 9 แสดงความสมบูรณ์เซลล์ ของแต่ละ ทรีตเมนต์ที่อายุการเพาะเลี้ยง 84 ชั่วโมง

จากภาพ ที่อายุการเพาะเลี้ยงคีโตเซอรอส 84 ชั่วโมง พบว่า ในทุกๆ ทรีตเมนต์ มีเปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์เซลล์เริ่มลดลง เนื่องจากปริมาณของธาตุอาหารเริ่มลดน้อยลงสภาพแวดล้อม จึงไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต เซลล์จึงเริ่มตายเพิ่มมากขึ้น

ภาคผนวก ข

การตรวจสอบคุณภาพน้ำ

การวิเคราะห์หาแอมโมเนีย (ดัดแปลงจากวิธีของ Strickland และ Parson, 1972)

การเตรียมสาร

1. น้ำกลั่น deionized

น้ำกลั่น deionized ใช้สำหรับเตรียมสารละลาย, แบลงค์ และสารมาตรฐานน้ำกลั่นที่ใช้ควรได้จากการกลั่นใหม่ๆ

2. สารละลายฟีนอล

ละลายฟีนอล (C_6H_5OH) 5 กรัม ในเอธิลแอลกอฮอล์95 เปอร์เซ็นต์ (V/V) 50 มิลลิลิตร

3. สารละลายโซเดียมไนโตรปรัสไซด์

ละลายโซเดียมไนโตรปรัสไซด์ ($Na_2Fe(CN)_5NO_2.2H_2O$) 0.5 กรัม ในน้ำ deionized 100 มิลลิลิตร เก็บรักษาสารละลายนี้ในขวดแก้วสีชา สารละลายนี้มีอายุ 1 เดือน

4. สารละลายอัลคาไลน์

ละลายไตรโซเดียมซิเตรทไดไฮเดรต ($Na_3C_6H_5O_7.2H_2O$) (analytical reagent grade) 20 กรัม และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) (analytical reagent grade) 1 กรัม ในน้ำ deionized 100 มิลลิลิตร

5. สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์

ใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีอยู่ในท้องตลาด เช่น ไฮเตอร์ เพื่อให้ความเข้มข้นของคลอไรด์มากกว่า 1.5 นอร์มอล ควรซื้อที่ผลิตขึ้นมาใหม่ๆ อย่างไรก็ตามจะต้องตรวจสอบความรุนแรงของไฮเตอร์ก่อนใช้ ดังนี้

1) ละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3.5H_2O$) 12.5 กรัม ในน้ำ deionized 500 มิลลิลิตร สารละลายนี้มีความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล

2) ละลายโปแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) 2 กรัม deionized 50 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่แล้วเติมไฮเตอร์ลงไป 1 มิลลิลิตร

3) เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (12 นอร์มอล) ลงในสารละลายในข้อ (2)

4) ไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.1 นอร์นอล จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนสีเหลืองเป็นไม่มีสี

หมายเหตุ ถ้าการไตเตรทตามข้อ (4) แล้ว ใช้สารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตน้อยกว่า 12 มิลลิลิตร แสดงว่าไฮเตอร์เสื่อมสภาพ ไม่ควรนำมาวิเคราะห์หาแอมโมเนีย

6. สารละลาย oxidizing

ผสมสารละลายอัลคาไลน์และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เข้าด้วยกันในอัตราส่วน 4:1 (ตารางที่ 1) สารละลายนี้ควรเตรียมใหม่ทุกวัน

7. น้ำทะเลเทียม

ละลายโซเดียมคลอไรด์ (analytical reagent quality) เป็นกรัมตามความเค็มที่ต้องการในน้ำกลั่น 1 ลิตร

8. สารละลายมาตรฐานของแอมโมเนีย

ละลายแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) (analytical reagent quality) ที่อบแห้ง 105 -110 องศาเซลเซียส นาน 1 - 24 ชั่วโมง 0.165 กรัม ด้วยน้ำกลั่น deionized แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร ด้วยขวดวัดปริมาตร สารละลายนี้มีความเข้มข้น 35 มิลลิกรัม และเรียกสารละลายนี้ว่า stock standard solution เก็บสารละลายนี้ไว้ในขวดสีชา สารละลายนี้มีอายุการใช้งาน 6 เดือน ถึง 1 ปี

ตารางผนวก ข 1 สัดส่วนของสารละลายอัลคาไลน์ และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ใช้เตรียมสารละลายออกซิไดซิง (oxidizing)

สารละลายอัลคาไลน์ (มิลลิลิตร)	สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (มิลลิลิตร)	รวม (มิลลิลิตร)
4	1	5
8	2	10
12	3	15
16	4	20
20	5	25
24	6	30

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. การเตรียมกราฟมาตรฐาน

1.1 ดูดสารละลายจาก stock standard solution มา 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร สารละลายนี้มีความเข้มข้น 0.35 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อลิตร

1.2 ดูดสารละลายจากข้อ 1.1 มา 5 10 20 และ 40 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น หรือน้ำทะเลเทียมสารละลายนี้มีความเข้มข้น 0.035 0.070 0.140 และ 0.280 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตรตามลำดับ สำหรับแบลงค์ใช้น้ำกลั่นหรือน้ำทะเลเทียมให้สอดคล้องกับสารละลายมาตรฐาน

1.3 จากนั้นเติมสารละลายฟีนอล 2.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติมสารละลายโซเดียมไนโตรปรัสไซด์ และสารละลายออกซิไดซิง 2.5 และ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับหลังจากเติมน้ำยาเคมีแต่ละชนิดเขย่าให้เข้ากัน (เพื่อประหยัดน้ำยาเคมีอาจดูดสารละลายจากข้อ 1.2 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง (test tube) แล้วเติมน้ำยาเคมีในปริมาตรที่เป็นสัดส่วนกัน

1.4 ทิ้งไว้อย่างน้อย 1 ชั่วโมง แต่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร จดบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ หาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับความเข้มข้นด้วยวิธีlinear regression

2. การวิเคราะห์ตัวอย่าง

2.1 ใช้ไปเปตดูดน้ำตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่มีฝาปิดเป็นเกลียวเพื่อป้องกันการระเหยของแอมโมเนีย

2.2 เติมสารละลายฟีนอล 0.05 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไนโตรปรัสไซด์ และสารลายออกซิไดซิง 0.05 และ 0.1 มิลลิลิตร ตามลำดับ หลังจากเติมน้ำยาเคมีแต่ละชนิดเขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง แต่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง

2.3 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร

2.4 จดบันทึกค่าความเข้มข้นที่วัดได้ หรือนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาความเข้มข้นของแอมโมเนียในตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานที่ได้เตรียมไว้

การวัดความเป็นด่างทั้งหมด (Total alkalinity)

สารเคมี

1. น้ำกลั่นที่ปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์
2. สารละลายมาตรฐานกรดกำมะถัน 0.02 N

ใช้กรดกำมะถันเข้มข้นปริมาตร 2.8 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร จะได้กรดความเข้มข้น 0.1 N จากนั้นเจือจาง 200 มิลลิลิตรของกรด 0.1 N ด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 1 ลิตร กรดที่ได้ครั้งสุดท้ายนี้จะมีความเข้มข้นประมาณ 0.02 N หาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดกำมะถันโดยไตเตรต กับสารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนต 0.02 N หาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายมาตรฐานกรดกำมะถันโดยใช้สูตร

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

โดยที่ N_1 และ N_2 คือความเข้มข้นของสารละลายตั้งต้นและสารละลายสุดท้าย และ V_1 และ V_2 คือปริมาตรของสารละลายตั้งต้นและสารละลายสุดท้าย

3. สารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนต 0.02 N

ละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_2 ที่อบแห้งที่ 101 องศาเซลเซียส) 1.060 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร

4. สารละลายเมธิลออร์เรนจ์อินดิเคเตอร์

ละลายเมธิลออร์เรนจ์อินดิเคเตอร์ 0.05 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

วิธีการทดลอง

1. ตวงน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายเมธิลออร์เรนจ์อินดิเคเตอร์ 4-8 หยด ลงในน้ำตัวอย่าง
3. นำน้ำตัวอย่างไตเตรตกับสารละลายมาตรฐานกรดกำมะถัน 0.02 N จนกระทั่งถึงจุดยุติ ซึ่งจะเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีส้มอ่อน
4. คำนวณค่าความเป็นด่างทั้งหมดตามสูตรต่อไปนี้

$$\text{ความเป็นด่างทั้งหมด (mg.CaCO}_2\text{/L)} = \frac{\text{(มิลลิลิตรของ titrant) (N. ของ titrant) (50) (1,000)}}{\text{มิลลิลิตรของน้ำตัวอย่าง}}$$

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	นายสุภวัช จิตรักษ์
วัน เดือน ปีเกิด	17 พฤศจิกายน 2525
สถานที่เกิด	อำเภอสหัสขันธ์ จังหวัดกาฬสินธุ์
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (การประมง) มหาวิทยาลัยแม่โจ้ พ.ศ. 2548
สถานที่ทำงาน	ร้านคล้อเจริญการเกษตร 120/5 หมู่ 7 ตำบลดู่ อำเภอกันทรารมย์ จังหวัดศรีสะเกษ 33130
ตำแหน่ง	ผู้จัดการ